

Aus dem Institut für Mikrobiologie und Infektionskrankheiten der Tiere
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: Professor Dr. Dr. h. c. A. Mayr

**Vergleichende serologische Untersuchungen zum
Vorkommen von Influenza A₂/Hongkong/1/68- und
A/equi₂/Miami/63 - Infektionen bei Pferden**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität München

von
Bruno F. Bentele
aus
Ravensburg

München 1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553807_0045

Aus dem Institut für Mikrobiologie und Infektionskrankheiten der Tiere
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: Professor Dr. Dr. h. c. A. Mayr

**Vergleichende serologische Untersuchungen zum
Vorkommen von Influenza A₂/Hongkong/1/68- und
A/equi₂/Miami/63 - Infektionen bei Pferden**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität München

von

Bruno F. Bentele

aus

Ravensburg

München 1973

Aus dem Institut für Mikrobiologie und Infektionskrankheiten der Tiere
des Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorsitz: Professor Dr. Dr. h. c. A. Mayr

Vergleichende serologische Untersuchungen zum
Vorkommen von Influenza A, Hongkong/1957- und
A/England/1953 - Infektionen bei Pferden



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der wissenschaftlichen Doktorwürde
an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität München

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan: Prof. Dr. E. Dahme
Referent: Prof. Dr. Dr. h. c. A. Mayr
Korreferent: Priv. Doz. Dr. E. Munz

Tag der Promotion: 23. Februar 1973

I. Inhaltsverzeichnis	1
II. Einleitung	2
III. Hauptteil	3
1. Kapitel	4
2. Kapitel	5
3. Kapitel	6
4. Kapitel	7
5. Kapitel	8
6. Kapitel	9
7. Kapitel	10
8. Kapitel	11
9. Kapitel	12
10. Kapitel	13
11. Kapitel	14
12. Kapitel	15
13. Kapitel	16
14. Kapitel	17
15. Kapitel	18
16. Kapitel	19
17. Kapitel	20
18. Kapitel	21
19. Kapitel	22
20. Kapitel	23
21. Kapitel	24
22. Kapitel	25
23. Kapitel	26
24. Kapitel	27
25. Kapitel	28
26. Kapitel	29
27. Kapitel	30
28. Kapitel	31
29. Kapitel	32
30. Kapitel	33
31. Kapitel	34
32. Kapitel	35
33. Kapitel	36
34. Kapitel	37
35. Kapitel	38
36. Kapitel	39
37. Kapitel	40
38. Kapitel	41
39. Kapitel	42
40. Kapitel	43
41. Kapitel	44
42. Kapitel	45
43. Kapitel	46
44. Kapitel	47
45. Kapitel	48
46. Kapitel	49
47. Kapitel	50
48. Kapitel	51
49. Kapitel	52
50. Kapitel	53
51. Kapitel	54
52. Kapitel	55
53. Kapitel	56
54. Kapitel	57
55. Kapitel	58
56. Kapitel	59
57. Kapitel	60
58. Kapitel	61
59. Kapitel	62
60. Kapitel	63
61. Kapitel	64
62. Kapitel	65
63. Kapitel	66
64. Kapitel	67
65. Kapitel	68
66. Kapitel	69
67. Kapitel	70
68. Kapitel	71
69. Kapitel	72
70. Kapitel	73
71. Kapitel	74
72. Kapitel	75
73. Kapitel	76
74. Kapitel	77
75. Kapitel	78
76. Kapitel	79
77. Kapitel	80
78. Kapitel	81
79. Kapitel	82
80. Kapitel	83
81. Kapitel	84
82. Kapitel	85
83. Kapitel	86
84. Kapitel	87
85. Kapitel	88
86. Kapitel	89
87. Kapitel	90
88. Kapitel	91
89. Kapitel	92
90. Kapitel	93
91. Kapitel	94
92. Kapitel	95
93. Kapitel	96
94. Kapitel	97
95. Kapitel	98
96. Kapitel	99
97. Kapitel	100
98. Kapitel	101
99. Kapitel	102
100. Kapitel	103
IV. Schluss	104
V. Literaturverzeichnis	105
VI. Anhang	106
VII. Register	107
VIII. Zusammenfassung	108
IX. Bibliographie	109
X. Glossar	110
XI. Index	111
XII. Literaturverzeichnis	112
XIII. Anhang	113
XIV. Register	114
XV. Zusammenfassung	115
XVI. Bibliographie	116
XVII. Glossar	117
XVIII. Index	118
XIX. Literaturverzeichnis	119
XX. Anhang	120
XXI. Register	121
XXII. Zusammenfassung	122
XXIII. Bibliographie	123
XXIV. Glossar	124
XXV. Index	125
XXVI. Literaturverzeichnis	126
XXVII. Anhang	127
XXVIII. Register	128
XXIX. Zusammenfassung	129
XXX. Bibliographie	130
XXXI. Glossar	131
XXXII. Index	132
XXXIII. Literaturverzeichnis	133
XXXIV. Anhang	134
XXXV. Register	135
XXXVI. Zusammenfassung	136
XXXVII. Bibliographie	137
XXXVIII. Glossar	138
XXXIX. Index	139
XL. Literaturverzeichnis	140
XLI. Anhang	141
XLII. Register	142
XLIII. Zusammenfassung	143
XLIV. Bibliographie	144
XLV. Glossar	145
XLVI. Index	146
XLVII. Literaturverzeichnis	147
XLVIII. Anhang	148
XLIX. Register	149
L. Zusammenfassung	150
LI. Bibliographie	151
LII. Glossar	152
LIII. Index	153
LIV. Literaturverzeichnis	154
LV. Anhang	155
LVI. Register	156
LVII. Zusammenfassung	157
LVIII. Bibliographie	158
LIX. Glossar	159
LX. Index	160
LXI. Literaturverzeichnis	161
LXII. Anhang	162
LXIII. Register	163
LXIV. Zusammenfassung	164
LXV. Bibliographie	165
LXVI. Glossar	166
LXVII. Index	167
LXVIII. Literaturverzeichnis	168
LXIX. Anhang	169
LXX. Register	170
LXXI. Zusammenfassung	171
LXXII. Bibliographie	172
LXXIII. Glossar	173
LXXIV. Index	174
LXXV. Literaturverzeichnis	175
LXXVI. Anhang	176
LXXVII. Register	177
LXXVIII. Zusammenfassung	178
LXXIX. Bibliographie	179
LXXX. Glossar	180
LXXXI. Index	181
LXXXII. Literaturverzeichnis	182
LXXXIII. Anhang	183
LXXXIV. Register	184
LXXXV. Zusammenfassung	185
LXXXVI. Bibliographie	186
LXXXVII. Glossar	187
LXXXVIII. Index	188
LXXXIX. Literaturverzeichnis	189
LXXXX. Anhang	190
LXXXXI. Register	191
LXXXXII. Zusammenfassung	192
LXXXXIII. Bibliographie	193
LXXXXIV. Glossar	194
LXXXXV. Index	195
LXXXXVI. Literaturverzeichnis	196
LXXXXVII. Anhang	197
LXXXXVIII. Register	198
LXXXXIX. Zusammenfassung	199
LXXXXX. Bibliographie	200
LXXXXXI. Glossar	201
LXXXXXII. Index	202
LXXXXXIII. Literaturverzeichnis	203
LXXXXXIV. Anhang	204
LXXXXXV. Register	205
LXXXXXVI. Zusammenfassung	206
LXXXXXVII. Bibliographie	207
LXXXXXVIII. Glossar	208
LXXXXXIX. Index	209
LXXXXXX. Literaturverzeichnis	210
LXXXXXXI. Anhang	211
LXXXXXXII. Register	212
LXXXXXXIII. Zusammenfassung	213
LXXXXXXIV. Bibliographie	214
LXXXXXXV. Glossar	215
LXXXXXXVI. Index	216
LXXXXXXVII. Literaturverzeichnis	217
LXXXXXXVIII. Anhang	218
LXXXXXXIX. Register	219
LXXXXXXX. Zusammenfassung	220
LXXXXXXXI. Bibliographie	221
LXXXXXXXII. Glossar	222
LXXXXXXXIII. Index	223
LXXXXXXXIV. Literaturverzeichnis	224
LXXXXXXXV. Anhang	225
LXXXXXXXVI. Register	226
LXXXXXXXVII. Zusammenfassung	227
LXXXXXXXVIII. Bibliographie	228
LXXXXXXXIX. Glossar	229
LXXXXXXXX. Index	230
LXXXXXXXXI. Literaturverzeichnis	231
LXXXXXXXXII. Anhang	232
LXXXXXXXXIII. Register	233
LXXXXXXXXIV. Zusammenfassung	234
LXXXXXXXXV. Bibliographie	235
LXXXXXXXXVI. Glossar	236
LXXXXXXXXVII. Index	237
LXXXXXXXXVIII. Literaturverzeichnis	238
LXXXXXXXXIX. Anhang	239
LXXXXXXXXX. Register	240
LXXXXXXXXXI. Zusammenfassung	241
LXXXXXXXXXII. Bibliographie	242
LXXXXXXXXXIII. Glossar	243
LXXXXXXXXXIV. Index	244
LXXXXXXXXXV. Literaturverzeichnis	245
LXXXXXXXXXVI. Anhang	246
LXXXXXXXXXVII. Register	247
LXXXXXXXXXVIII. Zusammenfassung	248
LXXXXXXXXXIX. Bibliographie	249
LXXXXXXXXXX. Glossar	250
LXXXXXXXXXXI. Index	251
LXXXXXXXXXXII. Literaturverzeichnis	252
LXXXXXXXXXXIII. Anhang	253
LXXXXXXXXXXIV. Register	254
LXXXXXXXXXXV. Zusammenfassung	255
LXXXXXXXXXXVI. Bibliographie	256
LXXXXXXXXXXVII. Glossar	257
LXXXXXXXXXXVIII. Index	258
LXXXXXXXXXXIX. Literaturverzeichnis	259
LXXXXXXXXXXX. Anhang	260
LXXXXXXXXXXXI. Register	261
LXXXXXXXXXXXII. Zusammenfassung	262
LXXXXXXXXXXXIII. Bibliographie	263
LXXXXXXXXXXXIV. Glossar	264
LXXXXXXXXXXXV. Index	265
LXXXXXXXXXXXVI. Literaturverzeichnis	266
LXXXXXXXXXXXVII. Anhang	267
LXXXXXXXXXXXVIII. Register	268
LXXXXXXXXXXXIX. Zusammenfassung	269
LXXXXXXXXXXXX. Bibliographie	270
LXXXXXXXXXXXXI. Glossar	271
LXXXXXXXXXXXXII. Index	272
LXXXXXXXXXXXXIII. Literaturverzeichnis	273
LXXXXXXXXXXXXIV. Anhang	274
LXXXXXXXXXXXXV. Register	275
LXXXXXXXXXXXXVI. Zusammenfassung	276
LXXXXXXXXXXXXVII. Bibliographie	277
LXXXXXXXXXXXXVIII. Glossar	278
LXXXXXXXXXXXXIX. Index	279
LXXXXXXXXXXXXX. Literaturverzeichnis	280
LXXXXXXXXXXXXI. Anhang	281
LXXXXXXXXXXXXII. Register	282
LXXXXXXXXXXXXIII. Zusammenfassung	283
LXXXXXXXXXXXXIV. Bibliographie	284
LXXXXXXXXXXXXV. Glossar	285
LXXXXXXXXXXXXVI. Index	286
LXXXXXXXXXXXXVII. Literaturverzeichnis	287
LXXXXXXXXXXXXVIII. Anhang	288
LXXXXXXXXXXXXIX. Register	289
LXXXXXXXXXXXXX. Zusammenfassung	290
LXXXXXXXXXXXXI. Bibliographie	291
LXXXXXXXXXXXXII. Glossar	292
LXXXXXXXXXXXXIII. Index	293
LXXXXXXXXXXXXIV. Literaturverzeichnis	294
LXXXXXXXXXXXXV. Anhang	295
LXXXXXXXXXXXXVI. Register	296
LXXXXXXXXXXXXVII. Zusammenfassung	297
LXXXXXXXXXXXXVIII. Bibliographie	298
LXXXXXXXXXXXXIX. Glossar	299
LXXXXXXXXXXXXX. Index	300
LXXXXXXXXXXXXI. Literaturverzeichnis	301
LXXXXXXXXXXXXII. Anhang	302
LXXXXXXXXXXXXIII. Register	303
LXXXXXXXXXXXXIV. Zusammenfassung	304
LXXXXXXXXXXXXV. Bibliographie	305
LXXXXXXXXXXXXVI. Glossar	306
LXXXXXXXXXXXXVII. Index	307
LXXXXXXXXXXXXVIII. Literaturverzeichnis	308
LXXXXXXXXXXXXIX. Anhang	309
LXXXXXXXXXXXXX. Register	310
LXXXXXXXXXXXXI. Zusammenfassung	311
LXXXXXXXXXXXXII. Bibliographie	312
LXXXXXXXXXXXXIII. Glossar	313
LXXXXXXXXXXXXIV. Index	314
LXXXXXXXXXXXXV. Literaturverzeichnis	315
LXXXXXXXXXXXXVI. Anhang	316
LXXXXXXXXXXXXVII. Register	317
LXXXXXXXXXXXXVIII. Zusammenfassung	318
LXXXXXXXXXXXXIX. Bibliographie	319
LXXXXXXXXXXXXX. Glossar	320
LXXXXXXXXXXXXI. Index	321
LXXXXXXXXXXXXII. Literaturverzeichnis	322
LXXXXXXXXXXXXIII. Anhang	323
LXXXXXXXXXXXXIV. Register	324
LXXXXXXXXXXXXV. Zusammenfassung	325
LXXXXXXXXXXXXVI. Bibliographie	326
LXXXXXXXXXXXXVII. Glossar	327
LXXXXXXXXXXXXVIII. Index	328
LXXXXXXXXXXXXIX. Literaturverzeichnis	329
LXXXXXXXXXXXXX. Anhang	330
LXXXXXXXXXXXXI. Register	331
LXXXXXXXXXXXXII. Zusammenfassung	332
LXXXXXXXXXXXXIII. Bibliographie	333
LXXXXXXXXXXXXIV. Glossar	334
LXXXXXXXXXXXXV. Index	335
LXXXXXXXXXXXXVI. Literaturverzeichnis	336
LXXXXXXXXXXXXVII. Anhang	337
LXXXXXXXXXXXXVIII. Register	338
LXXXXXXXXXXXXIX. Zusammenfassung	339
LXXXXXXXXXXXXX. Bibliographie	340
LXXXXXXXXXXXXI. Glossar	341
LXXXXXXXXXXXXII. Index	342
LXXXXXXXXXXXXIII. Literaturverzeichnis	343
LXXXXXXXXXXXXIV. Anhang	344
LXXXXXXXXXXXXV. Register	345
LXXXXXXXXXXXXVI. Zusammenfassung	346
LXXXXXXXXXXXXVII. Bibliographie	347
LXXXXXXXXXXXXVIII. Glossar	348
LXXXXXXXXXXXXIX. Index	349
LXXXXXXXXXXXXX. Literaturverzeichnis	350
LXXXXXXXXXXXXI. Anhang	351
LXXXXXXXXXXXXII. Register	352
LXXXXXXXXXXXXIII. Zusammenfassung	353
LXXXXXXXXXXXXIV. Bibliographie	354
LXXXXXXXXXXXXV. Glossar	355
LXXXXXXXXXXXXVI. Index	356
LXXXXXXXXXXXXVII. Literaturverzeichnis	357
LXXXXXXXXXXXXVIII. Anhang	358
LXXXXXXXXXXXXIX. Register	359
LXXXXXXXXXXXXX. Zusammenfassung	360
LXXXXXXXXXXXXI. Bibliographie	361
LXXXXXXXXXXXXII. Glossar	362
LXXXXXXXXXXXXIII. Index	363
LXXXXXXXXXXXXIV. Literaturverzeichnis	364
LXXXXXXXXXXXXV. Anhang	365
LXXXXXXXXXXXXVI. Register	366
LXXXXXXXXXXXXVII. Zusammenfassung	367
LXXXXXXXXXXXXVIII. Bibliographie	368
LXXXXXXXXXXXXIX. Glossar	369
LXXXXXXXXXXXXX. Index	370
LXXXXXXXXXXXXI. Literaturverzeichnis	371
LXXXXXXXXXXXXII. Anhang	372
LXXXXXXXXXXXXIII. Register	373
LXXXXXXXXXXXXIV. Zusammenfassung	374
LXXXXXXXXXXXXV. Bibliographie	375
LXXXXXXXXXXXXVI. Glossar	376
LXXXXXXXXXXXXVII. Index	377
LXXXXXXXXXXXXVIII. Literaturverzeichnis	378
LXXXXXXXXXXXXIX. Anhang	379
LXXXXXXXXXXXXX. Register	380
LXXXXXXXXXXXXI. Zusammenfassung	381
LXXXXXXXXXXXXII. Bibliographie	382
LXXXXXXXXXXXXIII. Glossar	383
LXXXXXXXXXXXXIV. Index	384
LXXXXXXXXXXXXV. Literaturverzeichnis	385
LXXXXXXXXXXXXVI. Anhang	386
LXXXXXXXXXXXXVII. Register	387
LXXXXXXXXXXXXVIII. Zusammenfassung	388
LXXXXXXXXXXXXIX. Bibliographie	389
LXXXXXXXXXXXXX. Glossar	390
LXXXXXXXXXXXXI. Index	391
LXXXXXXXXXXXXII. Literaturverzeichnis	392
LXXXXXXXXXXXXIII. Anhang	393
LXXXXXXXXXXXXIV. Register	394
LXXXXXXXXXXXXV. Zusammenfassung	395
LXXXXXXXXXXXXVI. Bibliographie	396
LXXXXXXXXXXXXVII. Glossar	397
LXXXXXXXXXXXXVIII. Index	398
LXXXXXXXXXXXXIX. Literaturverzeichnis	399
LXXXXXXXXXXXXX. Anhang	400

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

=====

	Seite
1. E I N L E I T U N G	1
2. L I T E R A T U R	2
2.1. Natürlich vorkommende Influenza A ₂ /Hongkong-Infektionen bei Pferden	2
2.2. Experimentelle Infektion von Pferden mit Influenza A ₂ /Hongkong	3
2.3. Seroepizootologische Untersuchungen über Influenza A ₂ /Hongkong bei Pferden	7
2.4. Seruminhibitoren	10
2.4.1. Definition des Begriffes "Seruminhibitor"	10
2.4.2. Vorkommen und Eigenschaften hämagglutinationshemmender Seruminhibitoren	11
2.4.3. γ - Inhibitor im Pferdeserum	15
2.4.4. Eliminierung von Influenza - Inhibitoren	15
3. E I G E N E U N T E R S U C H U N G E N	20
3.1. Material und Methoden	20
3.1.1. Antigene	20
3.1.2. Seren	21
3.1.2.1. Herkunft der Seren	21
3.1.2.2. Vorbehandlung der Seren	22
3.1.2.2.1. Isoagglutininbehandlung	22
3.1.2.2.2. Seruminhibitorbehandlung	22
3.1.2.2.3. 2 - Mercaptoäthanolbehandlung	24
3.1.3. Hämagglutinationshemmungsreaktion	24
3.2. Ergebnisse	25

	Seite
3.2.1. Vergleich der Wirksamkeit verschiedener Verfahren zur Inhibitoreliminierung aus Pferdeseren	25
3.2.2. Hämagglutinationshemmende Antikörper gegen Influenza A ₂ /Hongkong/1/68 und A/equi ₂ /Miami/63 in Pferdeseren	26
3.2.2.1. In amerikanischen Pferdeseren	26
3.2.2.1.1. Ergebnisse der Serenbehandlung mit 2-Mercapto-äthanol	26
3.2.2.2. In deutschen Pferdeseren	28
3.2.2.2.1. Ergebnisse der Serenbehandlung mit 2-Mercapto-äthanol	28
3.2.2.2.2. Ergebnisse der Untersuchung von Serumpaaren	29
3.2.2.2.3. Antikörper gegen Influenza A ₂ /Hongkong/1/68 und A/equi ₂ /Miami/63 in den untersuchten Seren der Jahre 1968 bis 1972	29
3.2.2.2.4. Ergebnisse von Bestandsuntersuchungen	30
3.2.2.2.5. Antikörperbildung im Verlauf eines Pferdeinfluenza-Vakzinationsprogrammes	31
3.3. Diskussion	32
4. ZUSAMMENFASSUNG	37
5. TABELLEN	41
6. LITERATURVERZEICHNIS	48
7. LEBENS LAUF	

1. E I N L E I T U N G

Die Hypothese eines gemeinsamen Ursprungs menschlicher und tierischer Influenza-A-Viren hat durch die Tatsache, daß in den letzten Jahren eine Reihe von Influenzastämmen mit A_2 -Subtypbeziehung aus verschiedenen Tierarten isoliert werden konnten, Unterstützung erfahren (69). Das Erscheinen von Influenza-A-Viren mit neuen Hämagglutinin- und neuen Neuraminidaseeigenschaften legte die Vermutung nahe, daß diese Viren eher durch Veränderung im tierischen Reservoir, als durch Variation des Influenza- A_1 -Stammes entstanden sind (29). Nach serologischen Untersuchungen zahlreicher Spezies kommen Antikörper gegen menschliche Influenza- A_2 -Stämme sowohl im Tier, als auch umgekehrt Antikörper gegen tierische Influenza- A_2 -Stämme im Menschen vor.

Das Pferd erlangte als mögliches Virusreservoir Bedeutung, seitdem festgestellt wurde, daß nicht nur der 1968, sondern auch der 1900 aus Menschen isolierte Influenzastamm A_2 /Hongkong enge Antigenbeziehungen zu dem 1963 aus Pferden isolierten $A/equi_2$ -Stamm hat.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es, in diesem Zusammenhang Vorkommen und Verbreitung von Influenza A_2 /Hongkong-Infektionen beim Pferd zu untersuchen.

2. L I T E R A T U R

2.1. Natürlich vorkommende Influenza A₂/Hongkong-Infektionen bei Pferden

Daß der Influenzastamm A₂/Hongkong über ein ungewöhnlich breites Wirtsspektrum verfügt, beweisen serologische Untersuchungen bei zahlreichen Tierspezies (77). Auch in Pferden ist auf Grund derartiger Untersuchungen das Vorkommen von Influenza A₂/Hongkong beschrieben worden.

Angaben zu klinisch manifesten, natürlich vorkommenden Infektionen der Pferde mit diesem Erreger sind dagegen relativ selten, die A₂/Hongkong-Infektion scheint bei Tieren bevorzugt klinisch inapparent zu verlaufen.

Im Oktober 1957 wurde bei Pferden und deren Pflegepersonal in Charkov (U.d.S.S.R.) zum Zeitpunkt einer Typ Asia-Influenza-Epidemie eine Krankheit beobachtet, die unter den Leitsymptomen einer Influenza ablief (32, 76). Die betroffenen Pferde erkrankten 5 - 6 Tage nach einem Influenza-Ausbruch unter dem Stallpersonal und wiesen hohe Titer hämagglutinationshemmender und komplementbindender Antikörper gegenüber dem Influenza-A-Asia-Stamm auf. Bei nicht erkrankten Pferden konnten auch keine Antikörper nachgewiesen werden.

Von DOMRACHEVA (26) wurde beschrieben, daß während einer A₂-Influenzaepidemie im Jahre 1959 in Moskau sowohl Menschen als auch Pferde erkrankten und Virusisolationen bei beiden Spezies gelangen. Die Antikörperuntersuchungen sprachen für die Spezifität der Befunde.

MATEEV, LYUTSKANOV, NIKOLOVA, CHENCHER und TSONEV (48) berichten über den Ausbruch einer respiratorischen influenza-ähnlichen Erkrankung bei Pferden aus 13 Gebieten des Distrikts Varna/Bulgarien im Herbst 1969. Die beobachtete Krankheit verlief bei 45 Pferden (= 5,6 %) tödlich; etwa die Hälfte aller erkrankten Pferde erholte sich ohne Behandlung. Von 17 kranken Pferden wurden Serumpaare auf hämagglutinationshemmende Antikörper gegen Influenza A₂/Hongkong untersucht. 10 dieser Pferde reagierten dabei positiv, die Titer der Zweitserumproben waren signifikant höher als die des Erstserums. Die A₂/Hongkong-positiven Seren enthielten auch A/equi₂/Miami/63-Antikörper; fünf weitere Seren reagierten positiv gegenüber Influenza A/equi₁/Prag/56.

Über einen weiteren Ausbruch einer A₂/Hongkong-bedingten Erkrankung bei Pferden berichten 1971 SOBIECH und NOWACKI (63). Der von diesen Autoren beobachtete Krankheitsverlauf war charakterisiert durch Fieber bis 40,6 °C über einen Zeitraum von 2 - 3 Tagen. Die erkrankten Pferde verhielten sich apathisch; Husten, mucopurulenter Nasenausfluß und Anorexie bestimmten das klinische Bild. Die Morbiditätsrate unter den Pferden betrug 0,05 % bis 11,7 %; die Mortalitätsrate bewegte sich zwischen 0,1% und 6,9 %. Auch hier ergab die serologische Untersuchung Antikörper gegen Influenza A₂/Hongkong mit Titern bis 1 : 2560. Versuche, das Virus aus Nasenschleimproben zu isolieren, verliefen negativ. Paralleluntersuchungen an Seren von Menschen aus dem Epidemiegebiet ergaben ebenfalls Antikörper gegen Influenza A₂/Hongkong.

2.2. Experimentelle Infektion von Pferden mit Influenza A₂/Hongkong

Zur Klärung der Antigenbeziehungen zwischen Influenza A/equi₂ und Influenza A₂/Hongkong sind Infektionsexperimente an Pferden

und Menschen vorgenommen worden.

VERSTEEG, MOUTON und VERLINDE (73) infizierten ein Pferd intratracheal mit einem mäuseadaptierten asiatischen Influenzastamm. 2 Wochen p. inf. wurden hämagglutinationshemmende und neutralisierende Antikörper gebildet.

Von KASEL und COUCH (44), KASEL, FULK und HARVEY (45) wurde an 10 Ponies ein Infektionsexperiment mit Influenza A₂/Hongkong/1/68 und an Versuchspersonen mit Influenza A/equi₂/Miami/63 vorgenommen. Sowohl die Pferde als auch die Menschen erkrankten unter febrilen Symptomen, die bei den Menschen von natürlich vorkommender Influenza nicht unterschieden werden konnten.

Bei den Ponies wurde 30 Stunden p. inf. Fieber festgestellt, die Temperaturen erreichten im Verlauf der Erkrankung 39,2°C bis 40,1°C; die Fieberphase hielt 1 - 3 Tage an. Nasenspülproben der kranken Pferde zur 6. Stunde p. inf. enthielten kein Virus. Bei 5 der Ponies konnte aus den Spülproben erstmals am Tag 1 p. inf., bei 3 Ponies am Tag 2 p. inf. und bei 1 Pony am Tag 3 p. inf. Virus isoliert werden. Drei der Tiere schieden Virus über 1 Tag, 3 über 2 Tage, 2 über 3 Tage und eines über 5 Tage aus. Von insgesamt 10 infizierten Pferden entwickelten 4 serumneutralisierende Antikörper mit Titern von 1 : 2 bis 1 : 8 gegen Influenza A₂/Hongkong. Heterologe Titer gegen Influenza A/equi₂ konnten nicht nachgewiesen werden.

5 parallel mit dem humanen Influenzastamm A₂/Rockville/65 infizierte Ponies ließen keinerlei Reaktionen auf die Infektion erkennen. Der Stamm Rockville/65 besitzt keine Antigenbeziehung zu A₂/Hongkong.

52 und 75 Tage nach der Erstinfektion mit Influenza A₂/Hongkong wurden die 10 Ponies mit Influenza A/equi₂/Miami/63 gechallenged. 2 dieser Ponies und 1 Kontrolltier reagierten auf die Challenge-

Infektion mit Fieber. Diese Tiere waren also durch die Erstinfektion mit Influenza A₂/Hongkong nicht, vor der Infektion mit Influenza A/equi₂ geschützt. Versuchspersonen dagegen konnten durch eine Erstinfektion mit Influenza A/equi₂ vor einer nachfolgenden Infektion mit Influenza A₂/Hongkong geschützt werden. Die Virusausscheidung bei den Pferden, die eine Challenge-Infektion erhalten hatten, war geringer als die der Kontrolltiere.

Alle 10 Pferde reagierten auf die Challenge-Infektion mit einem Anstieg der Serumantikörper gegen Influenza A₂/Hongkong und entwickelten Antikörper gegen Influenza A/equi₂. Die Kontrolltiere reagierten auf die Infektion alle mit Antikörperbildung gegen Influenza A/equi₂; bei 3 der Pferde waren zusätzlich Antikörper gegen Influenza A₂/Hongkong nachzuweisen.

BLASKOVIC, KAPITANCIK, SABO, STYK, VRTIAK und KAPLAN (6, 7) beschrieben die experimentelle, intranasale Infektion von 6 Pferden mit Influenza A₂/Hongkong/1/68. Diese Pferde reagierten 2 - 3 Tage p. inf. auf die Infektion mit Inappetenz, Durst und geringgradigem Nasenausfluß. Die Symptome hielten 2 - 4 Tage an und klangen danach ohne Behandlung ab. 5 der Pferde wurden durch körperliche Anstrengung gestresst, ohne daß dies Fieber zur Folge gehabt hätte. Lediglich bei einem der Pferde, das nicht in das Stress-Experiment einbezogen worden war, konnte am 2. und 3. Tag p. inf. ein leichter Temperaturanstieg registriert werden. Das inokulierte Virus wurde am 5. Tag p. inf. aus den Nasenspülproben aller infizierten Pferde isoliert. Die histopathologische Untersuchung von 2 innerhalb des Infektionsexperiments getöteten Pferden (2. und 4. Tag p. inf.) ergab lediglich entzündliche Veränderungen der Nasenschleimhaut. Virusisolationsversuche aus den Organen verliefen negativ. 3 der 4 mit Influenza A₂/Hongkong (Pferde-

inhibitor-sensible Variante) infizierten Pferde entwickelten hämagglutinationshemmende Antikörper gegen die homologe Variante, eines dieser Tiere auch gegen die inhibitor-resistente Variante. Eine 40 Tage nach der Erstinfektion i. v. durchgeführte Challenge-Infektion mit Influenza A/equi₂/Miami/63 hatte die Bildung hoher Antikörpertiter gegen Influenza A₂/Hongkong/1/68, nicht jedoch gegenüber dem Challenge-Antigen zur Folge.

Dieselben Autoren infizierten experimentell 4 Pferde mit Influenza A/equi₂/Miami/63. Diese Pferde entwickelten hämagglutinationshemmende Antikörper gegen Influenza A/equi₂/Prag/56 bis zu Titern von 1 : 128; jedoch nur bis zu 1 : 16 gegenüber dem Infektionsvirus. Auf erneute Applikation des Influenza A/equi₂ Virus am 50. Tag nach der Erstinfektion reagierten die Pferde mit Antikörperbildung gegen das homologe Virus und die inhibitorsensible Variante von Influenza A₂/Hongkong/1/68. Eine i. v. vorgenommene Challenge-Infektion mit A₂/Hongkong (am 90. Tag nach der Erstinfektion) hatte die Bildung von Antikörpern mit höheren Titern gegenüber dem Challenge-Antigen als gegenüber Influenza A/equi₁ und A/equi₂ zur Folge. STYK, BLASKOVIC, SABO, HANA, KAPITANCIK und KAPLAN (65) untersuchten in diesem Zusammenhang Pferdeseren in der Hämagglutinationshemmungsreaktion (HAH) und dem Immunodiffusionstest. Aus den hierbei erhaltenen Ergebnissen schließen die Autoren auf die gemeinsame Natur des Influenza A/equi₂ und A₂/Hongkong-S-Antigens.

TODD, LIEF und COHEN (68) inokulierten 8 Ponies intranasal mit hohen Dosen von Influenza A₂/Hongkong (A₂/Phila/101/68) - Virus. Im Gefolge dieses Experiments erkrankte zwar der Experimentator 72 Stunden p. inf. an einer typischen Influenza, die Ponies blieben jedoch ausnahmslos ohne klinische Reaktion. Bis zum 7.Tag

p. inf. konnte eine Virusausscheidung über die Nasensekrete der Pferde beobachtet werden. Bei den infizierten Ponies wurde ein Ansteigen der neutralisierenden und komplementbindenden Antikörper gegenüber A_2 /Hongkong und $A/equi_2$ festgestellt. Die Titer der neutralisierenden Antikörper gegen $A/equi_2$ übertrafen die A_2 /Hongkong-Titer. Bei einem der Pferde wurde auch ein Antikörperanstieg gegenüber Influenza $A/equi_1$ beobachtet. Die meisten Antikörperreaktionen im Gefolge der experimentellen Infektion waren sekundärer Natur, so daß ein früherer Kontakt der Versuchspomies mit dem Influenza A_2 /Hongkong-Erreger vermutet werden muß. Damit würde sich auch die Beobachtung erklären lassen, daß keines der Pferde klinisch auf die Infektion reagierte.

2.3. Seroepizootologische Untersuchungen über Influenza A_2 /Hongkong bei Pferden

Zur Klärung der Epidemiologie der Influenza A_2 /Hongkong-Infektion und der Beziehung zwischen den Influenza A-Stämmen tierischer und menschlicher Herkunft wurden in den letzten Jahren eine Vielzahl seroepizootologischer Untersuchungen an den verschiedensten Tierarten vorgenommen. Gemeinsame Belastung der serologischen Untersuchungen sind die gegenüber Influenza A_2 /Hongkong in vielen Tierseren auftretenden Serum-inhibitoren (39). Das Fehlen einer einheitlichen Methode zur Eliminierung dieser Inhibitoren stellt eine zusätzliche Komplikation bei der Interpretation serologischer Befunde dar. (3).

Von Pferden aus der Umgebung Moskaus wurden Ende 1957 Serumproben auf Antikörper gegen Influenza A_2 -Asia untersucht (76). Nur bei Pferden dieses Herkunftsortes wurden Antikörper gegen den verwendeten humanen Influenzastamm gefunden; daraufhin vorgenommene Untersuchungen an Seren, die vor diesem Zeitpunkt von Pferden des

gleichen Gebietes gesammelt worden waren, blieben negativ.

Über serologische Bestandsuntersuchungen an Pferden berichtet BLASKOVIC, KAPITANCIK, SABO, STYK, VRTIAK und KAPLAN (6, 7).

Diese Arbeitsgruppe untersuchte 1967 825 Pferdeseren, die aus dem Gebiet der Slowakei gesammelt worden waren, in der HAH auf Antikörper gegen Influenza A₂/Hongkong/1/68 (IS- und IR-Varianten), Influenza A/equi₂/Miami/63 und A/equi₁/Prag/56.

Bei 824 Seren (99,9 %), die lediglich nach Hitzeinaktivierung (56°C/30') untersucht worden waren, wurden HAH-Titer gegen die A₂/Hongkong/IS-Variante mit Titern von 1 : 4 bis 1 : 512 nachgewiesen, 17 (2,3 %) von 735 in der HAH gegen die IR-Variante getesteten Seren waren positiv mit Titern von 1 : 2 bis 1 : 4. Wurde nach der Hitzeinaktivierung eine Behandlung mit KJO₄ angeschlossen, so konnten nur noch bei 47 (6,4 %) von 735 untersuchten Seren HAH-Titer gegen A₂/Hongkong-IS-Variante bis zur Verdünnung von 1 : 32 nachgewiesen werden.

Bei keinem der untersuchten Pferde wurden A/equi₂-Titer und nur bei 5,5 % A/equi₁-Titer (1 : 4 bis 1 : 32) gefunden. Auf Grund dieser Ergebnisse forderten die Autoren eingehendere Untersuchungen zur Klärung der Frage, ob die beobachteten Influenza A₂/Hongkong-Antihämagglutinine als Antikörper angesprochen werden können.

Zur Klassifizierung des die menschliche Influenzaepidemie von 1968 in Hongkong verursachenden Virus untersuchten COLEMAN, DOWDLE, PEREIRA, SCHILD und CHANG (23) die neu aufgetretene Influenzavariante A₂/Hongkong/1/68. Bei den in diesem Zusammenhang durchgeführten reziproken HAH-Testen wurden geringe Kreuzreaktionen zwischen dem A₂/Hongkong-Stamm und den A/equi₂-Influenzastämmen beobachtet. Neutralisationsteste sicherten die in der HAH beobachteten Kreuzreaktionen. Diese offensichtliche antigene Beziehung wurde

an Pferdeserumpaaren von Pferden, die während des A/equi₂-Seuchenzuges von 1963 erkrankt waren, weiter untersucht. Hierbei wurde festgestellt, daß der Anstieg der hämagglutinationshemmenden und neutralisierenden Antikörper gegenüber Influenza A₂/Hongkong gleich oder größer war als gegenüber dem infizierenden A/equi₂-Virus. Die im Verlauf der A₂/Hongkong-Epidemie entnommenen Menschenserumpaare wiesen demgegenüber lediglich vierfache oder höhere Titeranstiege gegenüber dem infizierenden Antigen, nicht jedoch gegenüber Influenza A/equi₂ auf. Im Neuraminidasehemmungstest konnten keinerlei Kreuzreaktionen nachgewiesen werden.

Diese Befunde sichern die von MINUSE, QUEEN, DAVENPORT und FRANCIS (52), MASUREL und MULDER (47), DAVENPORT, HENNESSY und MINUSE (24), TUMOVA und PEREIRA (70) beschriebenen Ergebnisse. Es liegt kein Beweis dafür vor, daß die beobachteten Antigenbeziehungen ätiologisch von Bedeutung sind.

Reziproke HAH-Teste zur Klärung serologischer Beziehungen von Pferde- und Menscheninfluenzastämmen wurden auch von McQUEEN, KAYE, COLEMAN und DOWDLE (51) beschrieben. Die Autoren untersuchten hierzu Seren von 8 rekonvaleszenten Pferden, die innerhalb eines Influenza A/equi₂-Ausbruches erkrankt waren. Die Seren dieser 8 Pferde wiesen in der HAH durchwegs höhere Antikörpertiter gegenüber Influenza A/equi₁/Prag/56 und A₂/Hongkong/1/68 als gegenüber Influenza A/equi₂ auf. In reziproken HAH-Tests unter Verwendung monospezifischer Hühnerantisera traten Kreuzreaktionen nur zwischen Influenza A₂/Hongkong und A/equi₂ auf. In dieses Experiment waren 7 humane und 3 equine Influenzastämme einbezogen worden.

CECCARELLI und FORLETTA (18) untersuchten 354 Pferdeserumproben des Zeitraumes 1966 bis 1970, die in verschiedenen Intervallen während einer humanen Influenzaepidemie in Italien entnommen worden waren, auf HAH-Antikörper gegen Influenza A₂/Hongkong/1/68, A/equi₂/Winchester/63 und A/equi₁/Prag/56. Die Seren waren zur Inhibitoreliminierung getrennt mit KJO₄ und RDE behandelt worden. 69 (19 %) der Seren enthielten Antikörper gegen Influenza A₂/Hongkong/1/68. Die Titer reichten nach der Inhibitor-Vorbehandlung von 1 : 10 bis 1 : 640. 35 dieser Seren von insgesamt 69 reagierten positiv nur gegen Influenza A₂/Hongkong, 34 wiesen zusätzlich Antikörper gegen beide mitgetesteten equinen Influenzastämme auf. Die Titer verhielten sich in etwa gleich. Die Autoren beobachteten, daß der Prozentsatz A₂/Hongkong-positiver Seren während und nach einer Humaninfluenzaepidemie anstieg.

2.4. Seruminhibitoren

2.4.1. Definition des Begriffes "Seruminhibitor"

Als Inhibitoren bezeichnet man in der Virologie antivirale Serumkomponenten bei Mensch und Tier. Die Inhibitoren gehören bisherigen Untersuchungen zufolge (8) nicht in die Gruppe der Immunglobuline und unterscheiden sich dadurch von spezifischen Antikörpern. Die Fähigkeit der Inhibitoren, mit dem Virus eine mehr oder weniger komplexe Bindung einzugehen, drückt sich einmal in der unspezifischen Hemmung serologischer Reaktionen, speziell der HAH und, in Abhängigkeit von der Stabilität des Virus-Inhibitor-Komplexes, in der Neutralisation der Infektiosität des Virus aus. Inhibitoren sind spezies- und virusspezifisch wirksam und können mit hoher Selektivität gegen bestimmte Virusstämme ein- und desselben Serotyps gerichtet sein (3, 31, 56). Die hemmende Wirkung

der Seruminhibitoren kann von eventuell notwendigen Co-Faktoren abhängen. Einige Inhibitoren sind direkt oder indirekt durch den Bedarf und die Stabilität des Co-Faktors charakterisiert (8). Man unterscheidet thermolabile und thermostabile Seruminhibitoren. Thermolabile Inhibitoren dürften häufig auf Komplementfaktoren angewiesen sein. Der Komplementbedarf als Kriterium zur Differenzierung von "Normalantikörpern" und thermolabilen, unspezifischen Inhibitoren wird seit der Erkenntnis, daß die meisten dieser bisher erforschten Inhibitoren den Immunglobulinen zuzuordnen sind, eingesetzt (4, 38).

Thermostabile Inhibitoren belasten die Serodagnostik in besonderem Maße. Diese Inhibitoren müssen zu ihrer Abgrenzung und Charakterisierung nach POLYAK (57) einer 60-minütigen Erhitzung auf 60 - 62°C widerstehen.

2.4.2. Vorkommen und Eigenschaften hämagglutinationshemmender Seruminhibitoren

Zum ersten Mal beschrieb McCREA 1946 (49) einen hitzelabilen Hämagglutinin-Inhibitor in Kaninchen-Normalserum. Im darauffolgenden Jahr entdeckte FRANCIS (30) im Menschenserum eine Komponente, die die Hämagglutination mit hitzeinaktiviertem LEE-Virus stark hemmte, jedoch kaum eine Auswirkung auf nicht vorbehandeltes Virus hatte. Spätere Studien von HIRST (34, 35, 36), BURNET (11, 12, 13, 14, 15, 16, 17), ANDERSON (1, 2), McCREA (50), GINSBERG und HORSFALL (33), SMITH und WESTWOOD (61, 62), CHU (19), SAMPAIO und ISAACS (58, 59) zeigten, daß Hämagglutinininhibitoren in den meisten Tierseren vorkommen. Die von den o. a. Autoren beschriebenen Hemmsubstanzen können in den Francis (α) - Inhibitor und in ein hitzelabiles Protein, den Chu (β) - Inhibitor unterteilt werden (39).

Seit 1958 ist ein weiterer unspezifischer Inhibitor in Pferde- und Meerschweinchen-Seren, der nur gegen asiatische Influenza-A₂-Stämme gerichtet ist und als γ -Inhibitor bezeichnet wird, bekannt (20, 21, 22, 60, 66, 74).

Von STYK (64) wurde ein im Rattenserum vorkommender Inhibitor beschrieben, der die Hämagglutination von Influenzaviren nur bei Verwendung von Hühnererythrozyten hemmte. Diese Hemmsubstanz erhielt die Bezeichnung "C - Inhibitor".

Eine Übersicht über die bisher beschriebenen Influenza-Inhibitoren gibt Tabelle 1.

nach HOYLE, 1968

FRANCIS-INHIBITOR	CHU-INHIBITOR	γ -INHIBITOR	C-INHIBITOR
Frettchen	Kaninchen	Pferd	Ratte
Huhn	Meerschwein	Kaninchen	
Kaninchen	Ochse	Meerschwein	
Meerschwein	Schaf	Schwein	
Mensch	Mensch	Mensch	
Maus	Maus		
Katze	Frettchen		
Hamster	Baumwollratte		
Ratte	Huhn		
	Hamster		
	Ratte		

Untersuchungen zahlreicher Arbeitsgruppen (4, 5, 9, 10, 28, 40, 41, 67, 74) über Struktur und Wirkungsmechanismus von Serum-inhibitoren führte zur Unterteilung der Inhibitoren in 2 Hauptgruppen:

- A) α - Inhibitor (Francis-Inhibitor)
- γ - Inhibitor
- ϵ - Inhibitor
- B) β - Inhibitor (Chu-Inhibitor)

Die Inhibitoren der Gruppe A sind ihrer chemischen Struktur nach hitzestabile Mucoproteine oder Lipomucoproteine. Sie besitzen Virushämagglutininrezeptoren, mit denen sie bezüglich der Bindung von Virus in Konkurrenz zu den in serologischen Reaktionen verwendeten Erythrozyten treten können.

Der Inhibitor der Gruppe B besteht aus hitzelabilem Protein und ist, um aktiv zu sein, auf die Anwesenheit von Ca-Ionen angewiesen. Er kann als natürlicher Antikörper angesehen werden, der in möglicher Beziehung zu heterophilen Antikörpern steht. Er reagiert im Gegensatz zu den Inhibitoren der Gruppe A in relativ unspezifischer Art mit dem Virus. Seine Aktivität ist nicht nur vom jeweiligen Virusstamm, sondern auch von der verwendeten Wirtszelle abhängig.

ANTONIADIS und WOYTEK (3) halten auf Grund ihrer Untersuchungen über die Stammspezifität von Serum-inhibitoren im Gegensatz zu dem bisher Gesagten die Zuordnung auftretender Hemmaktivitäten zu einzelnen Inhibitorarten nicht für zweckmäßig. Ihrer Ansicht nach stellt nicht der Inhibitor den variablen Faktor innerhalb der Reaktion Virus-Inhibitor dar, sondern das Virion selbst, das durch entsprechende Veränderungen seiner Rezeptoren jeweils gegen die in Seren enthaltene α , β , γ , usw. Substanz empfindlich werden kann.

2.4.3. γ - Inhibitor im Pferdeserum

Die im Pferdeserum vorkommende, speziell gegen Influenza A₂-Asia-Viren gerichtete Hemmsubstanz wird als γ - Inhibitor bezeichnet (39). Der thermostabile γ - Inhibitor erreicht in Pferde-Normalseren extrem hohe Titer und ist sowohl gegen lebende als auch hitzeinaktivierte Influenza A₂-Viren aktiv. Er ist in der Lage, die Infektiosität von Influenzaviren zu neutralisieren und die Hämagglutination zu hemmen. Intranasale Injektion von Pferdeserum schützt Mäuse bis zu 6 Stunden gegenüber nachfolgender Influenza A₂-Infektion. γ - inhibitorsensible und γ - inhibitorresistente Influenzastämme werden unterschieden. Seiner chemischen Natur nach stellt der gereinigte γ - Inhibitor ein Glykoprotein mit einem Sialsäure-Anteil dar. Der γ - Inhibitor enthält 12 % Polysaccharid, das aus Galaktose, Mannose, Glukosamin und Sialsäure besteht.

2.4.4. Eliminierung von Influenza-Inhibitoren

Zur Eliminierung von Inhibitoren sind bisher eine Vielzahl von Methoden beschrieben worden. Im Folgenden ist eine Übersicht über die meistgebrauchten Verfahren zusammengestellt:

1. Hitzeinaktivierung, 30 Min. bei 56°C (76):

Zu 1 Teil Serum werden 9 Teile einer 0,01-M phosphatgepufferten physiologischen NaCl-Lösung mit einem pH von 7,2 zugesetzt. Das Gemisch wird 30 Minuten bei 56°C im Wasserbad inkubiert.

2. Hitzeinaktivierung, 30 Min. bei 62°C (43):

Nach dieser Methode werden die Seren vor der HAH im Wasserbad bei 62°C 30 Minuten lang inaktiviert. Hitze labile Inhibitoren werden dabei zerstört.

3. Titration in Natriumoxalat-, Citrat-, Fluorid- und Metaphosphatlösungen (39):

An Stelle der üblicherweise verwendeten physiologischen Kochsalzlösung als Verdünnungsflüssigkeit werden die Seren in einer der o. a. Lösungen titriert. Dadurch werden die Kalziumsalze aus den Seren entfernt. Die besten Ergebnisse sollen durch Verwendung physiologischer Oxalatlösungen erhalten werden (72).

4. KJO₄ - Behandlung:

Nach ANTONIADIS und WOYTEK (3) werden zu 1 Teil Serum 3 Teile einer frisch hergestellten M/90 KJO₄ - Lösung (0,2556 g KJO₄ in 100 ml phosphatgepufferter NaCl-Lösung) zugegeben. Nach 15-minütiger Inkubation bei Raumtemperatur werden 3 Teile einer 1 %-igen Glycerinlösung (1 ml Glycerin und 99 ml phosphatgepufferte NaCl-Lösung) zum Gemisch zugesetzt. Sofort danach wird die HAH angeschlossen. Die Ausgangsverdünnung des nach diesem Verfahren behandelten Serums beträgt 1 : 7.

Nach HIRST (37) werden 1 Teil Serum und 2 Teile gesättigtes KJO₄ gemischt und 15 Minuten bei 56°C gehalten. Im Anschluß daran werden zur Neutralisation des KJO₄ 2 Teile 7 %-iger Glucose hinzugegeben.

JAMES und Fiset (40) beschrieben die gleiche Methode mit Verwendung M/90 KJO₄ und einer Inkubation des Gemisches bei Raumtemperatur anstelle 56°C.

Die KJO₄-Behandlung hat nach HOYLE (39) bei Verwendung grösserer Mengen KJO₄ in erster Linie Einfluß auf den Francis-Inhibitor, jedoch keine oder nur geringe Wirkung auf hitzelabile Inhibitoren.

5. RDE (Receptor Destroying Enzyme) - Behandlung

Nach dem von der Herstellerfirma PHILIPPS - DUPHAR angegebenen Verfahren werden 5 Teile Cholera-Filtrat mit 1 Teil Serum gemischt. Das Gemisch wird 18 Stunden lang bei 37°C inkubiert, um die Rezeptoren im Serum zu zerstören, die für die unspezifischen Hämagglutinationshemungen verantwortlich sind. Im Anschluß daran wird das Gemisch 60 Minuten bei 56°C gehalten, um mögliche in dem Gemisch zurückgebliebene aktive Enzyme zu eliminieren. Die Ausgangsverdünnung beträgt 1 : 6.

6. Trypsin - Behandlung

Nach ANTONIADIS und WOYTEK (3) werden 4 Teile einer frisch hergestellten Trypsinlösung (2 mg Trypsin Difco 1 : 250 pro ml 0,01 M phosphatgepufferte physiologische NaCl-Lösung pH 8) einem Teil Serum zugegeben und 30 Minuten bei 56°C inkubiert.

Nach HOYLE (39) werden zu einem Teil Serum 4 mg handelsübliches Trypsin, gelöst in 0,5 ml 0,1 M Phosphatpuffer, zugegeben. Dieses Gemisch wird für 30 Minuten im Wasserbad bei 56°C erhitzt. Die Ausgangsverdünnung beträgt 1 : 4.

Die Trypsinbehandlung zerstört sowohl den Francis- als auch den Chu-Inhibitor (41, 59).

7. Trypsin - KJO_4 - Behandlung

Nach JENSEN (42) wird zu 1 Teil Serum 1/2 Teil frisch hergestellte Trypsinlösung (8 mg Trypsin Difco 1 : 250 ml 0,01 M phosphatgepufferte physiologische NaCl-Lösung pH 8) beigemischt und im Wasserbad 30 Minuten bei 56°C inkubiert. Diesem Gemisch werden 3 Teile einer frisch hergestellten M/90 KJO_4 -Lösung zugesetzt. Nach einer Inkubation von 45 - 60 Minuten bei Zimmertemperatur werden 3 Teile einer 1 %-igen Glycerinlösung dazugegeben.

8. Kaolin - Behandlung (3)

Zu 1 Teil Serum werden 5,25 Teile gepufferte NaCl-Lösung und 5 Teile einer 25 %-igen Kaolinsuspension (25 g säuregewaschenes Kaolin in 75 ml gepufferte NaCl-Lösung) zugesetzt. Die Mischung wird 20 Minuten unter gelegentlichem Schütteln bei Zimmertemperatur gehalten und anschließend 30 Minuten bei 25 UpM zentrifugiert. Der Überstand entspricht einer Serumverdünnung von 1 : 10.

9. CO_2 - Behandlung (76)

Zu 1 Teil Serum werden 9 Teile destilliertes Wasser und einige reiskorngroße Stückchen Trockeneis zugefügt. Das Ganze wird sorgfältig geschüttelt, bis eine milchige Trübung eintritt und nach 10 Minuten bei 1500 bis

2000 UpM 10 Minuten zentrifugiert. 9 Teile Überstand werden mit 1 Teil einer 8,5 %-igen NaCl-Lösung versetzt, um eine physiologische Salzkonzentration der Flüssigkeit zu erreichen. Nach diesem Verfahren ist das Serum annähernd 1 : 10 verdünnt.

Durch diese Serumbehandlung wird sowohl der Francis- als auch der Chu-Inhibitor zerstört.

3. E I G E N E U N T E R S U C H U N G E N

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Antigene

In allen Hämagglutinationshemmungstesten (HAH-Test) verwendeten wir die Influenzastämme A/equi₂/Miami/63 und A₂/Hongkong/1/68. Der A₂/Hongkong-Stamm wurde uns von der WHO als Pferdeinhibitor-resistent (EIR) angegeben.

Das Influenza A₂/Hongkong/1/68-Virus erhielten wir in einer uns nicht bekannten Eipassagenzahl von Dr. G. D. SCHILD vom World Influenza Centre ⁺⁾ in London. Nach 2 von uns durchgeführten Amnionhöhlenpassagen in 10-tägigen bebrüteten Hühnereiern erreichte der Stamm in der 5. darauffolgenden Allantoishöhlenpassage Hämagglutinationstiter (HA-Titer) von 1 : 128. Proben gleicher Titer wurden auf Kontamination untersucht, sterile Proben gepoolt, portioniert und bei minus 20°C bis zu ihrer Verwendung gelagert.

Influenza A/equi₂/Miami/63 erreichte nach 4 Allantoishöhlenpassagen HA-Titer von 1 : 512. Proben davon wurden in gleicher Weise behandelt und unter gleichen Bedingungen gelagert wie Influenza A₂/Hongkong.

Die Hämagglutinationsteste wurden nach der üblichen Methode im Röhrchentest durchgeführt. Das Antigen wurde mit physiologischer Kochsalzlösung in 2er Potenzen titriert (0,2 ml). Getestet wurde mit einer Suspension 0,5 %-iger Hühnererythrozyten. Die letzte Verdünnungsstufe mit kompletter Hämagglutination wurde als HA-Titer gewertet.

⁺⁾ Für die Überlassung des Stammes sind wir Herrn Dr. Schild zu Dank verpflichtet.

3.1.2. Seren

3.1.2.1. Herkunft der Seren

Zur Untersuchung in der Hämagglutinationshemmungsreaktion (HAH) gelangen 286 Pferdeseren verschiedener Herkunft:

a) 189 Seren aus deutschen Pferdebeständen

Diese Seren entstammen dem Untersuchungszeitraum 1968 bis 1972. Sie sind uns aus ganz Deutschland aus Pferdebeständen, in denen respiratorische Krankheitserscheinungen auftraten, zugesandt oder von uns entnommen worden. Unter diesen Seren befanden sich 3 geschlossene Bestände mit:

20 Pferden (Südbayern), Entnahme 1970,

25 Pferden (Norddeutschland), Entnahme 1971,

18 Pferden (Ostbayern), Entnahme 1972.

An 21 Serumpaaren (1. Entnahme akutes Krankheitsstadium, 2. Entnahme Rekonvaleszens) untersuchten wir serologisch die mögliche Mitbeteiligung von Influenza A₂/Hongkong/1/68 und/oder A/equi₂/Miami/63 am beobachteten Krankheitsgeschehen.

b) 97 Seren aus amerikanischen Pferdebeständen

Diese Seren waren stichprobenartig im Jahre 1969 Pferden aus verschiedenen Herkunftsorten Amerikas entnommen und uns zur Untersuchung zugesandt worden. Anamnestiche Erhebungen zu diesen Seren lagen nicht vor. Es war uns lediglich bekannt, daß es sich um Seren von Klinik- und Schlachtpferden aus den Südstaaten handelte.

Als negatives Kontrollserum diente ein antikörperfreies, hemmaktives Pferdevorkolostrumserum. Als positive Serumkontrolle

verwendeten wir ein Anti-A₂/Hongkong/1/68-Mischserum ⁺⁾
(Mensch) mit einem HAH-Titer von 1 : 160 und ein Anti-
A/equi₂/Miami/63-Pferdeserum mit einem HAH-Titer von 1 : 512.

3.1.2.2. Vorbehandlung der Seren

Alle Seren wurden vor ihrer Verwendung im Hämagglutinations-
hemmungstest 30 Minuten bei 56⁰C inaktiviert.

3.1.2.2.1. Isoagglutininbehandlung

Zur Eliminierung von Isoagglutininen absorbierten wir die Seren
mit Hühnererythrozyten. Zu diesem Zwecke wurde zum hitzeinakti-
vierten Serum im Verhältnis 1 : 4 eine 10 %-ige Hühnererythro-
zytensuspension hinzugegeben; die Serum-Erythrozyten-Gemische
für 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend
bei 1000 UpM für 10 Minuten abgeschleudert.

3.1.2.2.2. Seruminhibitorbehandlung

An den Referenzseren und 10 hemmaktiven Testseren prüften wir
die folgenden Methoden zur Eliminierung der inhibitorbedingten,
unspezifischen Hämagglutinationshemmungen.

1. Hitzeinaktivierung für 30 Minuten bei 62⁰C nach
KAPLAN und PAYNE (43).
2. Titration in Natriumoxalat nach HOYLE (39).

⁺⁾ Für die Überlassung des Serums danken wir Frau Dr. Epp,
Staatliche Bakteriologische Untersuchungsanstalt, München.

3. RDE - Behandlung nach dem von der Firma PHILIPPS - DUPHAR angegebenen Verfahren (71).
4. KJO_4 - Behandlung nach ANTONIADIS und WOYTEK (9).
5. Trypsin - Behandlung nach HOYLE (39).
6. Kaolin - Behandlung (25 %)

Bei der Durchführung hielten wir uns im wesentlichen an die von ANTONIADIS und WOYTEK (3) beschriebene Methode. Nach einer Reaktionszeit des Kaolin-Serumgemisches von 20 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugierten wir das Gemisch im Gegensatz zu den o. a. Autoren für 20 Minuten bei 1000 UpM und schlossen direkt daran die Isoagglutininbehandlung an. Dabei wurden zum Serum direkt auf das Kaolinsediment 0,4 ml 10 %-iger Hühnererythrozyten gegeben und für 45 Minuten unter gelegentlichem Schütteln bei Raumtemperatur inkubiert. Die Erythrozyten wurden danach abzentrifugiert (10 Minuten bei 1000 UpM). Das so erhaltene Serum ist 1 : 10 verdünnt.

7. Kaolin - Behandlung (50 %)

Anstelle 25 %-igen Kaolins verwendeten wir 50 %-iges Kaolin; die Methode entspricht der o. a.

Zur Kontrolle der Wirkung der jeweiligen Serumvorbehandlungsverfahren und des Verhaltens der spezifischen Antikörper gegenüber diesen Verfahren wurden die positiven Referenserum und das antikörperfreie, hemmaktive Pferde-vorkolostrumserum in jedem Test mitgeführt.

3.1.2.2.3. 2-Mercaptoäthanol-Behandlung (2-ME)

Zur Bestimmung des Globulintyps der Influenza A₂/Hongkong/1/68- und der Influenza A/equi₂/Miami/63-Antikörper behandelten wir die mit 50 %-igem Kaolin vorbehandelten, positiven Pferdeseren mit 2-Mercaptoäthanol (2-ME) in der von NOWOTNY (54) beschriebenen Form ohne Dialyse. Hierbei wird das Serum im Verhältnis 1 : 1 mit einer frisch angesetzten 2-ME-Lösung gemischt und für 1 Stunde bei 37°C im Wasserbad oder Brutschrank inkubiert, im Anschluß daran erfolgt die HAH. An antikörperfreien, hemmaktiven Seren untersuchten wir parallel dazu das Verhalten der Inhibitorsubstanz gegenüber 2-ME. Die Ausgangsverdünnung der Seren betrug nach 2-ME-Behandlung und vorweggegangener Kaolinbehandlung 1 : 20.

3.1.3. Hämagglutinationshemmungsreaktion (HAH)

Für die HAH-Teste wurden die vorbehandelten Pferdeseren in 2er Potenzen, beginnend mit der vom jeweiligen Vorbehandlungsverfahren abhängigen Ausgangsverdünnung, in phosphatgepuffelter NaCl-Lösung verdünnt. Wir arbeiteten mit gleichbleibenden Dosen von 0,2 ml. Zu jeder Serumverdünnung wurde das gleiche Volumen Antigen zugegeben. Das Influenza A₂/Hongkong/1/68-Antigen war auf 8 HAE (hämagglutinierende Einheiten), das A/equi₂/Miami/63-Antigen auf 4 HAE eingestellt worden. Die Reaktion erfolgte über 30 Minuten bei Raumtemperatur und nach Zugabe von je 0,2 ml 0,5 %-iger Hühnererythrozytensuspension für weitere 60 Minuten bei gleicher Temperatur. Nach völliger Sedimentation der Erythrozyten erfolgte die Ablesung des Testes. Allen Testansätzen liefen Antigenkontrollen, Normalserum- und Referenzserumkontrollen parallel. Zur Prüfung der verwendeten Hühnererythrozyten setzten wir pro Testansatz eine Erythrozytenkontrolle ein. Als Hämagglutinationshemmungstiter werteten wir die letzte Verdünnung die noch eine völlige Hemmung der Agglutination erzielte.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Vergleich der Wirksamkeit verschiedener Verfahren zur Inhibitoreliminierung aus Pferdeseren

Die Ergebnisse der verschiedenen von uns getesteten Serumbehandlungsverfahren zur Eliminierung des im Pferdeserum enthaltenen Inhibitors sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Die Vorversuche mit lediglich thermoinaktivierten (56°C für 30 Min.) Pferdeseren hatten ergeben, daß der von uns eingesetzte Influenzastamm A₂/Hongkong/1/68 (EIR) entgegen den von der WHO gegebenen Informationen pferdeinhibitorsensibel reagierte. Die sich daraus in der HAH ergebenden, unspezifischen Hemmreaktionen erreichten in den Seren erwachsener Pferde durchschnittlich Titer von größer 1 : 1024. Die Vorbehandlung der Pferdeseren durch Hitze (62°C), Titration der Seren in Oxalat, RDE- und Trypsinbehandlung hatte keinen entscheidend vermindernenden Einfluß auf die unspezifischen Hemmreaktionen. Vorbehandlungen der Seren mit 25 %-igem Kaolin und mit KJO₄ reduzierten derartige Hemmungen zwar, konnten sie jedoch nicht eliminieren. Erst durch Behandlung der Pferdeseren mit 50 %-igem Kaolin gelang es, inhibitorbedingte Hämagglutinationshemmungen zu vermeiden.

Der Influenzastamm A/equi₂/Miami/63 erwies sich erwartungsgemäß (55) stabil gegenüber dem Pferdeserum-Inhibitor.

Die Vorbehandlung der Seren mit 50 %-igem Kaolin hatte, beurteilt am A/equi₂/Miami/63-Referenzserum unter Berücksichtigung der verschiedenen Ausgangsverdünnungen, einen spezifischen Titerverlust bis zu 2 Zweierpotenzen zur Folge. In den weiteren Untersuchungen ergab sich, daß dieser Titerabfall nicht überschritten wurde und sich viele Seren hinsichtlich ihres Antikörpergehaltes

als stabil gegenüber diesem Serumvorbehandlungsverfahren erwiesen.

3.2.2. Hämagglutinationshemmende Antikörper gegen Influenza A₂/Hongkong/1/68 und A/equi₂/Miami/63 in Pferdeseren

3.2.2.1. In amerikanischen Pferdeseren

55 % der untersuchten amerikanischen Pferdeseren reagierten in der HAH negativ (Tabelle 3). 9 % der Seren wiesen HAH-Antikörper (Titer 1 : 10 bis 1 : 40) allein gegen Influenza A/equi₂/Miami/63 und 20 % HAH-Antikörper (Titer 1 : 40 bis 1 : 80) allein gegen Influenza A₂/Hongkong/1/68 auf. 16 % aller Seren enthielten HAH-Antikörper sowohl gegen Influenza A/equi₂/Miami/63 als auch gegen Influenza A₂/Hongkong/1/68 mit etwa gleichen Titern (Titer 1 : 10 bis 1 : 1280).

3.2.2.1.1. Ergebnisse der Serenbehandlung mit 2-Mercaptoäthanol

Bei den 16 % Seren, die sowohl gegen Influenza A/equi₂/Miami/63, als auch gegen Influenza A₂/Hongkong/1/68 reagierten, scheint eine Beziehung zwischen den Antikörpern gegen beide Antigene zu bestehen. Zur Untersuchung des Globulintyps dieser Antikörper testeten wir Seren unterschiedlicher Antikörperkonstellation vor und nach Behandlung mit 50 %-igem Kaolin und nachfolgender 2-Mercaptoäthanolbehandlung in der HAH.

Um auszuschließen, daß es sich bei den nach Kaolinvorbehand-

lung gegenüber Influenza A₂/Hongkong/1/68 beobachteten Hämagglutinationshemmungen evtl. doch noch um unspezifische Resthemmaktivitäten handeln könne, testeten wir versuchs-
halber einige antikörperfreie, hemmaktive Seren nach 2-ME-Behandlung in der HAH gegen beide Antigene mit. Generell erwiesen sich hierbei sowohl die A/equi₂/Miami/63-Antikörper, als auch die Inhibitorsubstanz stabil gegen-
über der 2-ME-Behandlung, während die A₂/Hongkong/1/68-Antikörper dagegen reduziert oder eliminiert wurden (Tabelle 4). Diesem Befund zufolge können wir die 2-ME-stabilen A/equi₂/Miami/63-Antikörper dem 7S-Globulintyp, die 2-ME-labilen A₂/Hongkong/1/68-Antikörper dagegen dem 19S globulintyp zuordnen. Eine Ausnahme hiervon bildete lediglich das Serum Nr. 75, dessen A₂/Hongkong-Antikörper sich gegenüber der Behandlung mit 2-Mercaptoäthanol stabil verhielten. Auch nach der Behandlung mit 2-Mercaptoäthanol war noch eine quantitative Beziehung des Antikörpergehaltes bei den Seren mit Antikörpern gegen beide eingesetzten Antigene zu verzeichnen. In Seren mit niedrigem oder fehlendem A/equi₂/Miami/63-Titer waren die ursprünglich ebenfalls niedrigen A₂/Hongkong/1/68-Titer nach 2-ME-Behandlung völlig reduziert, in Seren mit hohem A/equi₂/Miami/63-Titer und ursprünglich hohem Titer gegen A₂/Hongkong/1/68 waren nach dieser Behandlung noch A₂/Hongkong/1/68-Titer von 1 : 40 zu beobachten.

3.2.2.2. In deutschen Pferdeseren

54,5 % aller untersuchten Seren reagierten in der HAH gegenüber beiden eingesetzten Antigenen negativ. 17,5 % der Seren wiesen HAH-Antikörper allein gegen Influenza A/equi₂/Miami/63 und 4 % allein gegen Influenza A₂/Hongkong/1/68 auf. 24 % der Seren hatten Antikörper gegen beide eingesetzten Antigene mit etwa gleichen Titern gebildet. Die höchsten Titer lagen gegenüber A/equi₂/Miami/63 hierbei um 2 Zweierpotenzen über den A₂/Hongkong/1/68 - Werten (Tabelle 5).

3.2.2.2.1. Ergebnisse der Serenbehandlung mit 2-Mercaptoäthanol

Von 8 Seren, die Antikörper allein gegenüber Influenza A₂/Hongkong/1/68 gebildet hatten, verhielten sich 2 stabil gegenüber einer Behandlung mit 2-ME; die Titer dieser Seren blieben unbeeinflusst. Die restlichen 6 Seren reagierten nach Behandlung mit 2-ME in der HAH negativ (Tabelle 6).

Von 7 getesteten Seren mit hohen Titern allein gegen Influenza A/equi₂/Miami/63 erwiesen sich 4 gegenüber 2-ME stabil, 3 reagierten nach der 2-ME-Behandlung in der HAH negativ.

Aus der Gruppe der Seren mit Antikörpern gegen beide Antigene hatten wir 44 Seren mit 2-ME behandelt. 43 Seren zeigten nach dieser Vorbehandlung unveränderte A/equi₂/Miami/63- und 33 Seren stabile A₂/Hongkong/1/68-Titer. 1 Serum reagierte nach 2-ME-Behandlung gegenüber beiden Antigenen negativ.

3.2.2.2.2. Ergebnis der Untersuchung von Serumpaaren

Mit Hilfe der Serumpaaronuntersuchung prüfen wir serologisch die Mitbeteiligung eines Erregers an einer beobachteten Krankheit. Bei dieser Untersuchung im Gefolge einer spezifischen Erkrankung sehen wir einen Titeranstieg von ≥ 3 Zweierpotenzen im Zweitserum gegenüber nur einem Erregertyp als beweisend für dessen mögliche Mitbeteiligung am Zustandekommen der Erkrankung an. Die Ergebnisse der Tabelle 7 zeigen, daß lediglich im Zweitserum eines Pferdes (Nr. 6) ein signifikanter Antikörperanstieg gegenüber Influenza A₂/Hongkong/1/68 ohne parallel dazu auftretende Antikörper gegen andere von uns getestete respiratorische Viren zu verzeichnen war. Die Titeranstiege in den Zweitseren der Pferde Nr. 9 und 13 dagegen waren begleitet von ansteigenden HAH-Titern gegen Influenza A/equi₂/Miami/63. In allen 3 Fällen blieben die Antikörper gegenüber einer Behandlung mit 2-Mercaptoäthanol stabil.

In 6 Fällen (Pferde Nr. 8, 10, 18, 19, 20, 21) wurden beweisende Titeranstiege von drei oder mehr Zweierpotenzen gegenüber Influenza A/equi₂/Miami/63 festgestellt, ohne daß parallel dazu Antikörper gegen A₂/Hongkong/1/68 zu verzeichnen gewesen wären.

3.2.2.2.3. Antikörper gegen Influenza A₂/Hongkong/1/68 und A/equi₂/Miami/63 in den untersuchten Seren der Jahre 1968 bis 1972

Der Vergleich der prozentualen Häufigkeit auftretender Antikörper gegen beide Influenzastämme in den Pferdeseren aus den

Jahren 1968 bis 1972 ergab ein relativ einheitliches Bild. Wie aus Tabelle 8 hervorgeht, lagen die Prozentzahlen der gegen Influenza A₂/Hongkong/1/68 und/oder A/equi₂/Miami/63 positiven Seren in den einzelnen Jahren dicht beieinander. Wir müssen bei dieser Auswertung berücksichtigen, daß auf Grund der geringen Zahl an Seren, die pro Jahr zur Untersuchung zur Verfügung stand, hohe Streuungen entstehen und daß speziell die Ergebnisse der Jahre 1970 und 1972 durch zwei relativ große Bestände mit einem sehr hohen Prozentsatz antikörperfreier Seren beeinflusst sind.

3.2.2.2.4. Ergebnisse von Bestandsuntersuchungen

Zur Prüfung der Verbreitung von Influenza A₂/Hongkong/1/68- und A/equi₂/Miami/63-Infektion in geographisch unterschiedenen, geschlossenen Pferdepopulationen war es uns an Hand des verfügbaren Materials möglich, 3 Bestände mit 20, 25 bzw. 18 Pferden zu untersuchen. In allen 3 Beständen konnten anamnestisch respiratorische Befunde erhoben werden. Zweiteren von erkrankten Pferden aus diesen Beständen standen uns leider nicht zur Verfügung. Die Serenentnahmen waren pro Bestand zu einem einheitlichen Termin vorgenommen worden; es handelte sich um einen norddeutschen, einen süd- und einen ostbayerischen Bestand.

Die erhaltenen Ergebnisse sind insofern interessant (Tabelle 9), als die Seren der Pferde beider bayerischen Bestände (1970 und 1972) geschlossen negativ gegenüber Influenza A₂/Hongkong/1/68 reagierten, bei 9 von 25 Pferden des norddeutschen Bestandes (1971) dagegen A₂/Hongkong/1/68 - Antikörper vorlagen,

die sich in 8 Fällen 2-ME stabil verhielten.

3.2.2.2.5. Antikörperbildung im Verlauf eines Pferde-
influenza-Vakzinationsprogrammes

Zur Klärung der Frage der immer wieder beobachteten heterologen Mitreaktionen nahmen wir Antikörperverlaufsuntersuchungen vor. Zu diesem Zwecke hatten wir bei 3 Pferden vor und in regelmäßigen Abständen bis zum 8. Monat nach Vakzination mit einer handelsüblichen Pferdeinfluenza-Vakzine (Prevacun) Seren entnommen und auf HAH-Antikörper gegen Influenza A/equi₂/Miami/63 und A₂/Hongkong/1/68 untersucht. Dabei konnten wir mit auftretenden A/equi₂-Antikörpern (3. Woche p. v.) auch Hämagglutinationshemmungen gegen Influenza A₂/Hongkong/1/68 beobachten (Tabelle 10). Diese Hämagglutinationshemmungen erreichten jedoch maximal nur Titer von 1 : 20 und zeigten keine Tendenz, mit den steigenden A/equi₂-Titern anzuwachsen. Die Hämagglutinationsgemeinschaft beider getesteter Antigene scheint damit bis zur Höhe der beobachteten Titer serologisch in Erscheinung getreten zu sein. Eine Differenzierung der Antikörper mit 2-ME konnten wir auf Grund der niederen Titer nicht vornehmen.

3.3. Diskussion

In Übereinstimmung mit anderen Autoren (3, 6, 7) gelang es uns mit den herkömmlichen Methoden nicht, befriedigende Ergebnisse zur Eliminierung des gegen Influenza A₂/Hongkong gerichteten Inhibitors aus Pferdeseren zu erzielen. Die daraufhin von uns durchgeführte Vorbehandlung der Seren mit 50 %-igem Kaolin hatte bei dem verwendeten Influenzastamm A₂/Hongkong/1/68 den besten Erfolg. Titerverluste bis zu 2 Zweierpotenzen im Gefolge dieser Behandlung müssen in Kauf genommen werden. Bei Verwendung der Kaolinmethode können, abhängig von der eingesetzten Kaolincharge, variable Resultate erhalten werden. Es ist deshalb notwendig, möglichst nur Kaolin einheitlicher Qualität zu gebrauchen.

ANTONIADIS und WOYTEK (3) beschrieben, daß die von ihnen getesteten Influenza-Virusstämme A₂/Berlin/2/68 und A₂/Hongkong/1/68 sich nicht nur bezüglich ihrer Empfindlichkeit gegenüber spezies-verschiedenen Inhibitoren, sondern auch gegenüber Inhibitoren gleicher Tierarten unterscheiden. Daraus muß gefolgert werden, daß das zur Inhibitoreliminierung geeignete Verfahren immer in Beziehung zum verwendeten Influenzastamm gesehen werden muß. Die Standardisierung von Verfahren zur Eliminierung der Hemmsubstanzen aus Pferdeseren wird dadurch noch mehr erschwert.

Die nach der Inhibitoreliminierung erhaltenen Ergebnisse machen deutlich, daß der Influenza A/equi₂-Erreger in den Pferdebeständen weit verbreitet ist. Unsere Befunde müssen unter der Berücksichtigung der Tatsache, daß sich unter den Titern eine uns unbekannte Anzahl Impftiter verbergen kann, gesehen werden.

Nach den Aussagen von MOLL (53) können HAH-Titer größer 1 : 237 gegen Influenza A/equi₂ die Folge einer natürlichen Auseinandersetzung mit dem Erreger sein. Das wäre bei 22 % der von uns untersuchten deutschen Seren der Fall. Der mögliche Titerverlust von 1 bis 2 Zweierpotenzen im Gefolge der 50 %-igen Kaolinbehandlung bleibt hierbei unberücksichtigt.

Die HAH-Titer gegenüber Influenza A/equi₂/Miami/63 in den amerikanischen Pferdeseren lagen i. a. unter denen der deutschen Seren. Dies kann seine Ursache darin haben, daß diese Seren auf Grund häufigerer Untersuchungen gegenüber anderen Viren öfter benutzt und damit öfter eingefroren/aufgetaut wurden als die deutschen Seren. Der Prozentsatz negativer Seren dagegen entspricht dem der deutschen Pferdeseren.

Eine enge Beziehung zwischen der Höhe der Antikörpertiter ließ sich in unseren Untersuchungen bei den Seren beobachten, die Antikörper gegen beide eingesetzte Antigene gebildet hatten. Dieses Phänomen kann sowohl die Folge der beschriebenen Antigengemeinschaft im Hämagglutinin der verwendeten Influenzastämme (6, 7, 23, 44, 46, 51, 55, 70) als auch der Auseinandersetzung der betroffenen Pferde mit beiden Influenzaerregern sein (6, 7).

Zur Differenzierung der Antikörper hatten wir in Vorversuchen an den amerikanischen Pferdeseren die von DEUTSCH und MORTON (25) beschriebene Methode der 2-Mercaptoäthanol-Behandlung der Seren zur Trennung der IgM-Makroglobuline geprüft. Hierbei konnten wir feststellen, daß die A/equi₂-Antikörper sich vorwiegend stabil gegenüber 2-ME verhielten, während die A₂-Hongkong-Antikörper um einige Zweierpotenzen reduziert oder eliminiert wurden. Wir sprechen die 2-ME-stabilen Antikörper als 7S-Globuline, die 2-ME-labilen dagegen als 19S-Globuline an.

Lediglich eines der untersuchten amerikanischen Pferdeseren wies einen 2-ME-stabilen A_2 /Hongkong-Titer auf, den wir als Ausdruck einer intensiven Auseinandersetzung mit dem Virus betrachten. Bei den Seren mit Antikörpern gegen Influenza A/equi₂ und A_2 /Hongkong müssen wir die um einige Zweierpotenzen reduzierten A_2 /Hongkong-Titer als Folge der Antigengemeinschaft mit Influenza A/equi₂ werten. Die A/equi₂-Titer waren hierbei durchweg 2-ME-stabil.

Von 51 getesteten deutschen Seren mit Titern größer 1 : 20 gegen Influenza A/equi₂/Miami/63 verhielten sich 47 gegenüber einer 2-ME-Behandlung stabil. Dieser Befund spricht für eine manifeste Auseinandersetzung der betroffenen Pferde mit diesem Virus.

Realistische Anhaltspunkte zum Vorkommen von Infektionen mit Influenza A_2 /Hongkong bei Pferden zu erhalten gestaltete sich schwierig. Von den 8 deutschen Seren, die allein gegen den humanen Influenzastamm reagiert hatten, verhielten sich 2 stabil gegenüber einer 2-ME-Behandlung; 6 Seren reagierten - ebenso wie die untersuchten 4 amerikanischen Seren - nach der 2-ME-Behandlung in der darauffolgenden HAH negativ. Da wir bei den deutschen Pferden wissen, daß sie aus Beständen mit respiratorischen Erkrankungen kamen, glauben wir, daß bei ihnen eine natürliche Auseinandersetzung mit dem Influenza A_2 /Hongkong-Erreger vorlag. Auch die Ergebnisse der Serumpaaru-ntersuchungen weisen darauf hin, daß vereinzelte Influenza A_2 /Hongkong-Infektionen beim Pferd vorkommen.

Bei 24 % der deutschen Pferdeseren fanden wir Antikörper gleichzeitig gegen beide verwendeten Influenzastämme. 44 Seren

dieser Gruppe wurden mit 2-ME behandelt, 33 Seren blieben 2-ME-stabil. Bei 10 Seren wurden die A_2 /Hongkong-Antikörper eliminiert. Ob die Titer der 33 2-ME-stabilen Seren durch die Antigengemeinschaft oder auf Grund einer Auseinandersetzung der Pferde mit beiden Erregern verursacht wurden, können wir nicht klären. Aus der Höhe der Influenza A_2 /Hongkong-Titer - im Vergleich zur heterologen Antikörperbildung nach Prevacun-Vakzination - können wir lediglich annehmen, daß sich darunter Pferde befanden, die A_2 /Hongkong-Infektionen durchgemacht haben.

Die Tatsache, daß gegen Influenza A/equi₂ häufiger 2-ME-stabile Antikörper als gegen Influenza A_2 /Hongkong gebildet werden, spricht dafür, daß der humane Influenzastamm für das Pferd weniger virulent ist. Daß jedoch die natürlich vorkommende als auch die experimentelle Infektion der Pferde mit Influenza A_2 /Hongkong zu klinisch manifesten Erscheinungsformen führen kann, haben wir beschrieben.

Für die Beobachtung, daß parallel zu Influenzawellen unter der menschlichen Bevölkerung es auch zu Erkrankungen, zumindest zur Auseinandersetzung von Pferden mit dem Erreger kommen kann, sprechen die Ergebnisse der Untersuchung geschlossener, geographisch getrennter Pferdebestände. Hierbei fanden wir nur bei den niedersächsischen Pferden Antikörper gegen Influenza A_2 /Hongkong. Zeitlich war diesen Serenentnahmen eine Grippewelle bei Menschen vorausgegangen (75), während die bayerischen Pferde, deren Serenentnahmen zu Zeitpunkten erfolgt waren, als aus der Bevölkerung nur vereinzelt Infektionen mit dem asiatischen Grippevirus gemeldet wurden (27), alle negativ reagierten.

Die in unseren Untersuchungen immer wieder auftretenden heterologen Mitreaktionen hatten uns veranlaßt, an Prevacun-geimpften Pferden Antikörperverlaufsuntersuchungen vorzunehmen. Hierbei konnten wir mit auftretenden A/equi₂-Antikörpern auch Antikörper gegenüber Influenza A₂/Hongkong registrieren. Diese erreichten allerdings nie die Höhe der A/equi₂-Titer und zeigten keine Tendenz im Verlauf der Antikörperzunahme mit anzusteigen.

Auf Grund dieser Untersuchungen nehmen wir an, daß das Pferd sich wohl mit dem menschlichen A₂/Hongkong-Virus infizieren und unter bestimmten Bedingungen auch erkranken kann, es scheint jedoch lediglich Endglied einer Infektkette zu sein, die im Sinne einer Anthropzoonose abläuft. Es ist unwahrscheinlich, daß dem Pferd als Virusreservoir bei menschlichen Influenza-Epidemien Bedeutung zukommt.

4. ZUSAMMENFASSUNG

186 Seren von Pferden aus Deutschland und 97 von Pferden aus Amerika wurden auf hämagglutinationshemmende Antikörper gegen Influenza A₂/Hongkong/1/68 und Influenza A/equi₂/Miami/63 untersucht.

Auf Grund der Sensibilität des Influenzastammes A₂/Hongkong/1/68 gegenüber dem in Pferdeseren vorhandenen χ -Inhibitor kam es zu unspezifischen Hemmungen der Hämagglutinationsreaktion. Zur Eliminierung der Hemmsubstanz wurden Pferdeseren vergleichsweise mittels Hitze, Oxalattitration, KJO₄, RDE, Trypsin, 25 %- und 50 %-igem Kaolin vorbehandelt. Die Vorbehandlung der Seren mit 50 %-igem Kaolin erwies sich hierbei zur Eliminierung der inhibitorbedingten Hämagglutinationshemmungen am geeignetsten.

Nach dieser Vorbehandlung reagierten 54,5 % der deutschen und 55 % der amerikanischen untersuchten Seren gegen beide eingesetzten Antigene in der Hämagglutinationshemmungsreaktion negativ. 24 % der deutschen und 16 % der amerikanischen Seren wiesen Antikörper gegen beide Antigene auf; 17,5 % der deutschen und 9 % der amerikanischen Seren hatten Antikörper allein gegen Influenza A/equi₂/Miami/63 und 4 % der deutschen und 20 % der amerikanischen Antikörper allein gegen Influenza A₂/Hongkong/1/68. Die Antikörper gegen Influenza A/equi₂ waren vorwiegend 2-Mercaptoäthanol (2-ME) - stabil, die gegen Influenza A₂/Hongkong dagegen 2-ME - labil.

Eine mögliche Mitbeteiligung von Influenza A₂/Hongkong am Krankheitsgeschehen konnte durch die Untersuchung von 21

Serumpaaren erkrankter deutscher Pferde in einem Fall und von Influenza A/equi₂ in 6 Fällen festgestellt werden.

Antikörperverlaufsuntersuchungen an geimpften (Prevacun) deutschen Pferden zeigten, daß heterologe A₂/Hongkong-Mitreaktionen die Folge der Antigengemeinschaft sind.

Auf Grund unserer Ergebnisse glauben wir, daß das Pferd lediglich Endglied einer Influenza A₂/Hongkong-Infektkette sein kann, die vom Menschen zum Pferd verläuft, und kein Virusreservoir bei A₂/Hongkong-Infektion des Menschen darstellt.

S U M M A R Y

186 horse sera of Germany and 97 horse sera of the United States of America were examined in the HI test for antibodies against the influenza strains A/equi₂/Miami/63 and A₂/Hongkong/1/68. The serological reactions were interfered with because of nonspecific inhibition due to the sensitivity of the A₂/Hongkong/1/68 strain to γ -inhibitors present in horse sera. To eliminate this inhibitory substance horse sera were pretreated by heat, oxalate titration, KJO₄, RDE, trypsin, 25% and 50% kaolin. Treatment of the sera with 50% kaolin proved to be the best suitable way of eliminating the inhibitory reaction. After this pretreatment 54,5% of the German and 55% of the American sera examined were negativ to both antigens in the HI test.

24% of the German and 16% of the American sera had antibodies to both antigens; 17,5% of the German and 9% of the American sera had antibodies only against the Influenza strain A/equi₂/Miami/63 and 4% of the German and 20% of the American sera only against the Influenza strain A₂/Hongkong/1/68.

The antibodies against Influenza A/equi₂/Miami/63 were mainly 2-Mercapto-ethanol-stabile, those against Influenza A₂/Hongkong/1/68 however 2-Mercapto-ethanol-labile.

A possible contribution of Influenza A₂/Hongkong to the disease could be observed in examinations of 21 serum samples of fallen ill German horses in one case and of Influenza A/equi₂ in 6 cases. The development of antibodies against A/equi₂ and A₂/Hongkong were tested over 8 months in successive HI-tests after horsevaccination (Prevacun). These tests showed that we have had heterologous antibody formations to understand as antigenic relationships between A₂/Hongkong and A/equi₂.

At that reason we can say that horses only can be members of an anthroponosis going from man to horse. It seems to be that horses are not reservoirs for A₂/Hongkong-infections in humans.

nach Vorbehandlung der Seren mit:

Serum	30'56°C	30'62°C	Oxalat- titration	RDE	KIO ₄	Trypsin	25 % Kaolin	50 % Kaolin
Referenz Mensch anti A ₂ /Hongkg.	256 256	-	-	0 48	448 28	-	0 160	0 160
Referenz Pferd anti A/equi ₂	256 512	-	-	384 768	224 56	-	320 80	80 10
Vorkolostrum- serum Pferd	0 512	-	-	0 192	0 7	-	0 20	0 0
Testserum Nr. 1	0 512	0 512	0 >1024	-	-	0 512	0 160	0 0
2	16 >1024	8 1024	8 >1024	-	-	4 1024	0 640	10 40
3	0 >1024	-	0 >1024	-	-	0 1024	0 640	0 0
4	16 >1024	-	32 >1024	-	-	24 1024	10 640	40 20
5	0 >1024	-	0 >1024	-	-	0 1024	0 320	0' 80
6	4 >1024	-	4 >1024	-	-	0 >1024	10 80	0 10
7	8 >1024	-	8 >1024	0 768	7 224	0 >1024	0 160	0 0
8	8 512	8 512	8 512	-	-	0 512	0 160	0 0
9	0 >1024	0 512	0 >1024	-	-	0 512	0 80	0 0
10	8 1024	16 512	8 1024	-	-	0 512	0 640	0 20

Tabelle 2: Übersicht über die Wirkung verschiedener Verfahren zur Eliminierung unspezifischer Hemmaktivi-
täten in Pferdeseren

Die angegebenen Zahlen bedeuten den reziproken Wert der Serumverdünnung, die noch eine komplette
Hemmung der HA erzielte.

0 bedeutet keine Hemmung der HA; - bedeutet nicht untersucht.

HAH - Antikörper gegen

Anteil untersuchter Seren in %	A/equi ₂ /Miami/63	A ₂ /Hongkong/1/68
55	0	0
9	1 : 10 bis 1 : 40	0
20	0	1 : 40 bis 1 : 80
8	1 : 20 bis 1 : 80	1 : 10 bis 1 : 40
8	1 : 160 bis 1 : 320	1 : 160 bis 1 : 1280

Tabelle 3: Prozentuale Verteilung von HAH-Antikörpern gegen Influenza A/equi₂/Miami/63 und A₂/Hongkong/1/68 in den amerikanischen Pferdeseren.

A₂/Hongkong/1/68

A/equi₂/Miami/63

Serum Nr.	30'56°C	30'56°C + 2-ME	30'56°C 50% Kaolin 50% Kaolin + 2-ME	30'56°C + 2-ME	30'56°C 50% Kaolin 50% Kaolin + 2-ME
81	0	0	0	512	0
98	0	0	0	> 1024	0
74	16	16	10	> 1024	0
138	32	16	20	> 1024	10
150	32	32	40	512	20
140	64	64	80	> 2048	40
153	0	0	0	> 2048	40
93	512	> 256	320	> 2048	160
180	> 128	> 256	> 320	> 1024	> 320
70	> 128	> 256	> 320	> 1024	> 320
66	> 128	> 256	160	> 1024	> 320
75	1024	> 256	320	> 2048	1280

Tabelle 4: Einfluß der 2-Mercaptoäthanolbehandlung auf HAH-Antikörper gegen Influenza A/equi₂/Miami/63 und A₂/Hongkong/1/68 in amerikanischen Pferdeseren.

Tabelle 5: Prozentuale Verteilung von HAH-Antikörpern gegen Influenza A/equi₂/Miami/63 und A₂/Hongkong/1/68 in den deutschen Pferdeseren.

Anteil untersuchter Seren in %	HAH-Antikörper gegen	
	A/equi ₂ /Miami/63	A ₂ /Hongkong/1/68
54,5	0	0
17,5	1 : 20 bis 1 : 320	0
4,0	0	1 : 20 bis 1 : 80
24,0	1 : 20 bis 1 : 640	1 : 20 bis 1 : 160

Tabelle 6: Einfluß der 2-ME-Behandlung auf HAH-Antikörper gegen Influenza A/equi₂/Miami/63 und A₂/Hongkong/1/68.

Serumgruppe	Anzahl Seren	HAH-Antikörper		HAH-Antikörper nach 2-ME	
		A/equi ₂ /Miami/63	A ₂ /Hongkong/1/68	A/equi ₂ /Miami/63	A ₂ Hongkong/1/68
1	3	1:40 und 1: 80	0	0	0
2	4	1:80 bis 1:320	0	1:40 bis 1:80	0
3	6	0	1:20 und 1:40	0	0
4	2	0	1:20 und 1:80	0	1:20 und 1:80
5	1	1:320	1:20	0	0
6	10	1:20 bis 1:640	1:20 bis 1:160	1:20 bis 320	0
7	33	1:40 bis 1:640	1:20 bis 1:160	1:20 bis 1:640	1:20 bis 1:160

Tabelle 7: Ergebnis der Untersuchung von Pferdeserum-Paaren

Serum Paar	Entnahme	HAH-Antikörpertiter	
		A/equi ₂ /Miami/63 (+2-ME)	A ₂ /Hongkong/1/68 (+2-ME)
1	4.06.68	160 (160)	40 (40)
	20.06.68	320 (40)	0 (0)
2	20.06.68	0	0
	19.07.68	0	0
3	4.06.68	320 (160)	20 (20)
	20.06.68	160 (160)	20 (0)
4	21.06.68	0	0
	19.07.68	0	0
5	20.06.68	320 (160)	40 (0)
	19.07.68	160 (80)	20 (20)
6	4.06.68	0	0
	27.06.68	0	80 (80)
7	20.06.68	40	0
	19.07.68	40	0
8	29.06.68	20 (0)	0
	16.07.68	320 (40)	0
9	19.07.68	0	0
	21.08.68	160 (160)	20 (20)
10	19.07.68	0	0
	21.08.68	40 (0)	0
11	16.10.68	160 (80)	40 (20)
	4.11.68	40	0
12	8.11.68	160 (160)	40 (40)
	9.12.68	320 (320)	80 (40)
13	13.11.68	0	0
	9.12.68	640 (640)	80 (40)
14	13.01.69	640 (320)	80 (80)
	31.01.69	640 (320)	80 (80)
15	11.03.69	640 (20)	160 (0)
	22.04.69	40 (20)	20 (0)
16	11.03.69	0	0
	26.04.69	40 (40)	20 (0)
17	4.01.72	0	0
	1.02.72	0	0
18	4.01.72	20	0
	1.02.72	160 (160)	0
19	1.01.72	0	0
	1.02.72	80 (40)	0
20	4.01.72	0	0
	1.02.72	40 (40)	0
21	4.01.72	0	0
	1.02.72	40 (40)	0

Tabelle 8: Prozentuale Verteilung von HAH-Antikörpern gegen
Influenza A/equi₂/Miami/63 und A₂/Hongkong/1/68
in deutschen Pferdeseren der Jahre 1968 bis 1972

Jahr	Zahl Seren	Antikörperverteilung (% untersuchter Seren)			
		negativ	A/equi ₂ positiv	A ₂ /Hongkong positiv	A/equi ₂ und A ₂ /Hongkong positiv
1968	51	41 %	22 %	4 %	33 %
1969	42	50 %	17,5 %	5 %	27,5 %
1970	35	77 %	17 %	3 %	3 %
1971	43	46 %	10 %	7 %	37 %
1972	18	72 %	28 %	0 %	0 %

Tabelle 9: Ergebnis der Untersuchung geschlossener Pferdebestände

Herkunft	Jahr	HAH-Antikörper		
		Zahl Seren	A/equi ₂ /Miami/63 (+2-ME)	A ₂ /Hongkong/1/68 (+2-ME)
Süd-bayern	1970	18	0	0
		2	20	0
Nord-deutsch-land	1971	15	0	0
		1	20	0
		1	0	40 (0)
		3	160 (160)	80 (80)
		1	160 (160)	40 (40)
		1	80 (80)	40 (40)
		2	80 (80)	20 (20)
		1	40 (40)	40 (40)
Ost-bayern	1972	13	0	0
		1	20	0
		2	40	0
		1	80	0
		1	160	0

Tabelle 10: Ergebnis einer serologischen Verlaufsuntersuchung im Gefolge eines equi-Influenza-Vakzineversuchs

	Antigen	Serumentnahme (HAH-Titer)						
		vor Vacc.	3 Wchn. p.v.	5 Wchn. p.v.	8 Wchn. p.v.	4 Mon. p.v.	6 Mon. p.v.	8 Mon. p.v.
1.	A/equi ₂	0	40	80	80	80	40	40
	A ₂ /Hongkong	0	10	10	20	10	10	10
2.	A/equi ₂	0	80	80	80	80	80	-
	A ₂ /Hongkong	0	20	10	10	20	20	-
3.	A/equi ₂	0	80	80	40	10	0	0
	A ₂ /Hongkong	0	10	10	10	0	0	0

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1.) ANDERSON, S. G.
(1948):
Mucins and mucoids in relation to influenza virus action.
1. Inactivation by R.D.E. and by viruses of the influenza group of the serum inhibitor of haemagglutination.
Aust.J.exp.Biol.med.Sci.26, 347-354.
- 2.) ANDERSON, S. G.,
F. M. BURNET, S. FA-
ZEKAS DE ST GROTH,
J. F. McCREA and J.D.
STONE (1948):
Mucins and mucoids in relation to influenza virus action.
6. General discussion.
Aust.J.exp.Biol.med.Sci.26, 403-411.
- 3.) ANTONIADIS, G. und
M. WOYTEK (1970):
Über die Stammspezifität von Serum-
inhibitoren. Vergleichende serologi-
sche Untersuchungen mit den Influenza-
virusstämmen A₂/Berlin/2/68 und
A₂/Hongkong/1/68.
Zbl. Bakt. I. Orig. 214, 186 - 197.
- 4.) ALLEN, R., R. A. FIN-
KELSTEIN and S. E.
SULKIN (1958):
Viral inhibitors in normal animal
sera.
Tex. Rep. Biol. Med., 16, 391.
- 5.) BARTOLOMEI-CORSI, O.
(1959):
Relations between A₂/influenza
virus and non-specific inhibitors
(Italian).
Sperimentale 109, 549 - 572.
- 6.) BLASKOVIC, D., B.
KAPITANCIK, A. SABO,
B. STYK, O. VRTIAK and
M. KAPLAN (1969):
Experimental infection of horses
with A/equi₂/Miami/63 and human
A₂/Hongkong/1/68 influenza viru-
ses.
1. The course of infection and
virus recovery. Acta. virol.
(engl. ed.) 13, 499 - 506.

- 7.) BLASKOVIC, D., B. KAPITANCIK, A. SABO, B. STYK, O. VRTIAK and M. KAPLAN (1969): Experimental infection of horses with A/equi₂/Miami/63 and human A₂/Hongkong/1/68 influenza viruses. 2. Antibody response to the infection. Acta virol. (engl. ed.), 13, 507-514.
- 8.) BÜGEL, K. (1969): Normale Antikörper und ihre Bedeutung für die Immunisierung des Schweines gegenüber dem MKS-Virus. Vet. Med. Habil., München
- 9.) BORECKY, L. (1956): On the question of virus receptors. The selective agglutinability of erythrocytes of the ground squirrel (Citellus Citellus). Folia biol. (Prague), 2, 344 - 350.
- 10.) BRUNO-LOBO, G. G., M. BRUNO-LOBO, J. V. VASCONCELLOS and J. TRAVASSOS (1957): Studies on Asian influenza in Rio de Janeiro. 3. Sensitivity of the virus to non-specific inhibitors (Portuguese). An. Microbiol. 5, 69 - 93.
- 11.) BURNET, F. M. (1948): Mucins and mucoids in relation to influenza virus action. 3. Inhibition of virus haemagglutination by glandular mucins. Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 26, 371 - 379.
- 12.) BURNET, F. M. (1948): Mucins and mucoids in relation to influenza virus action. 4. Inhibition by purified mucoid of infection and haemagglutination with the virus strain WSE. Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 26, 381 - 387.

- 13.) BURNET, F. M. (1948): Mucins and mucoids in relation to influenza virus action.
5. The destruction of "Francis inhibitor" activity in a purified mucoid by virus action.
Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 26, 389 - 402.
- 14.) BURNET, F. M. (1949): The effect of periodate on the virus-inhibiting qualities of mucoids in solutions.
Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 27, 361 - 374.
- 15.) BURNET, F. M. (1949): Inhibition of influenza virus haemagglutination by mucoids. 3. Specific relation between active virus and the corresponding indicator strains in studies of soluble inhibitors.
Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 27, 575 - 579.
- 16.) BURNET, F. M. (1951): Mucoproteins in relation to virus action.
Physiol. Rev. 31, 131 - 150.
- 17.) BURNET, F. M. and J. F. McCREA (1946): Inhibitory and inactivating action of normal ferret sera against an influenza virus strain.
Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 24, 277 - 282.
- 18.) CECCARELLI, A. and R. FORLETTA (1972): Investigation of horse serum samples for antibodies inhibiting haemagglutination by the Hongkong variant the influenza virus.
Zooprofilassi 26, 237 - 245
ref.: The Vet. Bull. 42, No. 2438 (1972).

- 19.) CHU, C. M. (1951): The action of normal mouse serum on influenza virus.
J. gen. Microbiol. 5, 739 - 757.
- 20.) COHEN, A. (1960): Protection of mice against Asian influenza virus infection by a normal horse serum inhibitor.
Lancet 791 - 794.
- 21.) COHEN, A. and G. BELYA-VIN (1959): Haemagglutination-inhibition of Asian influenza viruses: A new pattern of response.
Virology 7, 59 - 74.
- 22.) COHEN, A., F. BIDDLE and S. E. NEWLAND (1965): Analysis of horse serum inhibitors of A₂/influenza virus haemagglutination.
Brit. J. exp. Path. 46, 497 - 513.
- 23.) COLEMAN, M. T., W. R. DOWDLE, H. G. PEREIRA, G. C. SCHILD and W. K. CHANG (1968): The Hongkong/68 Influenza A₂ Variant
Lancet 2, 1384 - 1386.
- 24.) DAVENPORT, F. M., A. V. HENNESSY and E. MINUSE (1967): Further observations on the significance of A/Equine₂/63 Antibodies in man.
J. exp. Med. 126, 1049.
- 25.) DEUTSCH, H. F. and J. I. MORTON (1957): Dissociations of Human Serum Macroglobulins.
Science 125, 600.
- 26.) DOMRACHEVA, Z. V. (1959): An influenza A₂ outbreak in men and horses (Russian). "Problemy grippa i ostrykh respiratornykh zabolevaniy."
Tez. dokl. nach. Sess. Inst. AMN. SSSR Moscow 47.

- 27.) EPP, Chr. (1972): Persönliche Mitteilung; Staatliche Bakteriologische Untersuchungsanstalt, München.
- 28.) FAUCONNIER, B. (1949): Development of influenza virus and pH of the allantoic fluid of embryonated egg. 5. Acidifying and inhibitory effect of ammonium salts (French).
Ann. Inst. Pasteur 97, 377 - 384.
- 29.) FENNER, F. (1968): The biology of animal viruses.
New York and London, Academic press 2, 778.
- 30.) FRANCIS, T. (1947): Dissociation of haemagglutinating and antibody measuring capacities of influenza virus.
J. exp. Med. 85, 1 - 7.
- 31.) FRÖSNER, G. G. und
H. J. GERTH (1971): Antigenunterschiede zwischen pferdeseruminhibitorempfindlichen und -unempfindlichen Influenza A₂-Substämmen aus dem gleichen Isolat.
Archiv f. d. gesamte Virusforschung 36, 317 - 323.
- 32.) GAUDAMAKA, M. G., G. P.
VAGANOV, A. S. DROMASHKO,
B. D. SHVETSKAVA and
D. D. FYADINA (1959): Disease of the Upper Respiratory Tract in Horses Following the Human Influenza Epidemic of 1957.
Bull. Wld. Hlth. Org. 20, 505-508 (1959)
- 33.) GINSBERG, H. S. and
F. L. HORSFALL (1949): A labil component of normal serum which combines with various viruses. Neutralisation of infectivity and inhibition of haemagglutination by the component.
J. exp. Med. 90, 475 - 495.

- 34.) HIRST, G. K. (1948): The nature of the virus receptors of red cells. 1. Evidence on the chemical nature of the virus receptors of red cells and of the existence of a closely analogous substance in normal serum.
J. exp. Med. 87, 301 - 314.
- 35.) HIRST, G. K. (1948): The nature of the virus receptors of red cells. 2. The effect of partial heat inactivation of influenza virus on the destruction of red cell receptors and the use of unactivated virus in the measurement of serum inhibition.
J. exp. Med. 87, 315 - 328.
- 36.) HIRST, G. K. (1949): The nature of the virus receptors of red cells. 3. Partial purification of the virus agglutination inhibitor in human plasma.
J. exp. Med. 89, 223 - 232.
- 37.) HIRST, G. K. (1949): The nature of the virus receptors of red cells. 4. Effect of sodium periodate on the elution of influenza virus from red cells.
J. exp. Med. 89, 233 - 243.
- 38.) HOWITT, B. F. (1950): A nonspecific heat labile factor in the serum neutralisation test for Newcastle disease virus.
J. Immunol. 64, 73.
- 39.) HOYLE, L. (1968): The Influenza Viruses.
Springer Verlag, Wien, New York
- 40.) JAMES, S. M. and P. Fiset (1959): Serum inhibitors of Asian strains of influenza virus.
Nature (Lond.) 184, 1656 - 1657.

- 41.) JANDASEK, L. and N.
VOLAKOVA (1960):
Some properties of the haemagglutination inhibitor of type A₂ influenza viruses contained in the serum of normal guineapigs.
Acta virol. 4, 7 - 16.
- 42.) JENSEN, K. E. (1961):
Diagnosis of influenza by serologic methods.
Amer. Rev. Resp. Dis. 83, Suppl. 120.
- 43.) KAPLAN, M. and A. M.
PAYNE (1959):
Serological Survey in Animals for Type A-Influenza in Relation to the 1957 Pandemics.
Wld. Hlth. Org. Bull., 20, 465 - 488.
- 44.) KASEL, J. A. and R. B.
COUCH (1969):
Experimental Infection in Man and Horses with Influenza A Viruses.
Bull. Wld. Hlth. Org. 41, 447 - 452.
- 45.) KASEL, J. A.,¹ R. V.
FULK and E. W. HARVEY
(1969):
Susceptibility of Chincoteague ponies to antigenically dissimilar strains of human type A₂ influenza virus.
J. Immun. 103, 369 - 371.
ref.: The Vet. Bull. 40, 581.
- 46.) MARINE, A. M., W. M.
WORKMAN and R. G.
WEBSTER (1969):
Immunological Interrelationships of A-Viruses in Man.
Wld. Hlth. Org. Bull. 41, 475 - 482.
- 47.) MASUREL, N. and J.
MULDER (1966):
Studies on the content of antibodies for equine influenza viruses in human sera.
Bull. Wld. Hlth. Org. 34, 885 - 893.
- 48.) MATEEV, M., D. LYUTS-
KANOV, Z. NIKOLOVA,
I. CHENCHEV and T.
TSONEV (1970):
Equine influenza caused by A₂/Hongkong virus in Bulgaria.
Vet. Sbir. Sofia 67, No. 6. pp. 3 - 6.
ref.: The Vet. Bull. 41, 611.

- 49.) MCCREA, J. F. (1946): Non-specific serum inhibition of influenza haemagglutination.
Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 24, 283 - 291.
- 50.) MCCREA, J. F. (1948): Mucins and mucoids in relation to influenza virus infection. 2. Isolation and characterisation of the serum mucoid inhibitor of heated influenza viruses.
Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 26, 355 - 370.
- 51.) McQUEEN, J. L., H. S. KAYE, M. T. COLEMAN and W. R. DOWDLE (1969): Immunology of equine Influenza.
J. Am. vet. med. Ass. 155, 265 - 271.
ref.: The Vet. Bull. 40, 579.
- 52.) MINUSE, E., J. L. McQUEEN, F. M. DAVENPORT and T. F. FRANCIS, jr. (1965): Studies of antibodies to 1956 and 1963 equine influenza viruses in horses and men.
J. Immunol. 94, 563 - 566.
- 53.) MOLL, C. (1971): Vergleichende Untersuchungen über die Wirksamkeit verschiedener Pferdeinfluenzavakzinen in Kaninchen, Meerschweinchen und der Maus.
Vet. Med. Diss., München.
- 54.) NOWOTNY, A. (1969): Basis Exercises in Immunochemistry.
Verlag Springer, Berlin-Heidelberg-New York.
- 55.) PACCAUD, M. F. (1970): The Virology of Equine Influenza.
2nd. Intern. Conf. on Equ. Inf. Dis. Paris 1969.
Equine Infectious Diseases II
Verlag S. Karger: Basel-München-New York

- 56.) PAGANO, J. S., R. V. GILDEN and W. D. SEDWICK (1965): The specificity and interaction with poliovirus of an inhibitory bovine serum.
J. Immunol. 95, 909.
- 57.) POLYAK, R. Y. (1964): The effect of cations on the activity and resistance to heating of thermolabile inhibitors of influenza virus.
Acta virol. 8, 335.
- 58.) SAMPAIO, A. A. C. (1952): Inhibitors of influenza virus haemagglutination in normal animal sera.
Bull. Wld. Hlth. Org. 6, 467 - 472.
- 59.) SAMPAIO, A. A. C. and A. ISAACS (1953): The action of trypsin on normal serum inhibitors of influenza virus haemagglutination.
Brit. J. exp. Path. 34, 152 - 158.
- 60.) SHIMOJO, H.,¹ A. SUGIURA, T. AKAO and C. ENOMOTO (1958): Studies of a non-specific haemagglutination inhibitor of influenza A/Asian/57 virus.
Bull. Inst. publ. Hlth. Tokio, 7, 219 - 224.
- 61.) SMITH, W. and N. A. WESTWOOD (1949): Factors involved in influenza haemagglutination reactions.
Brit. J. exp. Path. 30, 48 - 61.
- 62.) SMITH, W. and J. C. N. WESTWOOD (1950): Influenza virus Haemagglutination. The mechanism of the Francis Phenomenon.
Brit. J. exp. Path. 31, 725 - 738.
- 63.) SOBIECH, T. and J. NOWACKI (1971): Equine Influenza caused by A₂/Hongkong Virus.
Medycyna Weterynaryjna 27, No. 3, 134 - 136.
ref.: The Vet. Bull. 42, 1295.

- 64.) STYK, B. (1955): Non-specific inhibitors in normal rat sera for the influenza C-type virus. The relation between the influenza C-type virus, Newcastle disease and epidemic parotitis.
Folia biol. (Praha) 1, 207 - 213.
- 65.) STYK, B., D. BLASKO-VIC, A. SABO, L. HANA, B. KAPITANCIK and M. KAPLAN (1970): Experimental infection of horses with A/equi₂/Miami/63 and human A₂/Hongkong/1/68 influenza viruses.
3. Immunodiffusion Study of the Anti-body Response.
Acta virol. 14, 35 - 46.
- 66.) TAKATSY, G. and K. BARB (1959): On the normal serum inhibitors for the avid Asian strains of influenza virus.
Acta virol. 3, 71 - 77.
- 67.) TAKATSY, G. and K. BARB (1959): New inhibitor and erythrocyte receptor substances for certain Asian strains of influenza virus.
Nature (Lond.) 183, 52 - 53.
- 68.) TODD, J. D., F. S. LIEF and D. COHEN (1970): Experimental infection of ponies with the Hongkong variant of human influenza virus.
Am. J. Epidem. 92, 330 - 336.
ref.: The Vet. Bull. 41, 1705.
- 69.) TUMOVA, B. and B. C. EASTERDAY (1968): Relationship of Envelope Antigens of Animal Influenza Viruses A₂ Influenza Strains Isolated in the Years 1957 - 1968.
Bull. Wld. Hlth. Org. 41, 429 - 435.
- 70.) TUMOVA, B. and H. G. PEREIRA (1968): Antigenic relationship between Influenza A-Viruses of Human and Animal Origin.
Wld. Hlth. Org. Bull. 38, 415.

- 71.) TYRELL, D. A. J. and
F. L. HORSFALL jr.
(1952):
A Procedure which Eliminates Non-specific Inhibitor from Human Serum but does not affect specific Antibodies against Influenza Viruses.
J. Immunol. 69, 563.
- 72.) VAN DER VEEN, J. and
J. MULDER (1950):
Studies on the antigenic composition of Human Influenza virus A strains.
Onderz. Meded. Inst. Praev. Geneesk. No. 6, Stenfert Kroese, Leiden.
- 73.) VERSTEEG, J., R. P.
MOUTON and J. D. VER-
LINDE (1958):
Asian influenza in horses (Dutch).
T. Diergeneesk. 83, 608 - 613.
- 74.) VOLAKOVA, N. and L.
JANDASEK (1959):
A thermostable inhibitor of newly isolated influenza virus strains in guineapig serum.
Acta virol. 3, 109 - 112.
- 75.) WILLERS, H., W. HÖP-
KEN and K. W. KNOCKE
(1972):
Ergebnisse der virologischen Diagnostik aus 19 Instituten.
Jahresbericht 1970. 12. Mitteilung.
Zbl. Bakt. u. Parasitenkd. Reihe A, Orig. 219, 46
- 76.) Wld. Hlth. Org. Expert
Committee of Respiratory
Virus Diseases (1959):
Wld. Hlth. Org. techn. Rep. Ser. No. 170
- 77.) Wld. Hlth. Org. (1971):
Mitteilungen, 16. Juli 1971

7. LEBENS LAUF

Am 28. Oktober 1947 wurde ich, Bruno Fidel B e n t e l e , als drittes von fünf Kindern der Eheleute Johann Bentele und Klara Bentele, geb. Gührer, in Ravensburg geboren.

Im April 1954 trat ich in die Volksschule in Bavendorf ein. Anschließend besuchte ich für 6 Jahre das Neue Gymnasium in Ravensburg und legte nach weiteren 3 Jahren am Wirtschaftsgymnasium Ravensburg die ordentliche Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1966/67 studierte ich an der Universität Hohenheim Landwirtschaft und ab Sommersemester 1967 an der Universität München 9 Semester Tiermedizin. Im März 1972 bestand ich das Staatsexamen und im Mai 1972 erhielt ich die Bestallung als Tierarzt.

Herrn Professor Dr. Dr. h.c. A. M a y r
danke ich hiermit für die freundliche Über-
lassung des Themas.

Besonderen Dank möchte ich Herrn Dr. Peter T h e i n
für seine jederzeit bereitwillig gewährte freund-
schaftliche Unterstützung aussprechen. Gleichzeitig
danke ich auch seiner technischen Assistentin
Fräulein E. M. E r h a r d.

